

Université de Montréal

Étude du système endocannabinoïde et ses implications dans la schizophrénie

Par
Joëlle Desfossés, MD

Département de psychiatrie
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté de médecine
en vue de l'obtention du grade MSc
en sciences biomédicales
option psychiatrie

Décembre, 2011

© Joëlle Desfossés, 2011

Université de Montréal
Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé :
Étude du système endocannabinoïde et ses implications dans la schizophrénie

présenté par :
Joëlle Desfossés

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Patricia Conrod
président-rapporteur

Lahcen Ait Bentaleb
directeur de recherche

Emmanuel Stip
codirecteur

Didier Jutras-Aswad
membre du jury

Résumé

La schizophrénie est une maladie complexe et a une prévalence approximative de 1% dans la population générale. Au sein des paradigmes neurochimiques, la théorie étiologique de la dopamine est celle qui prévaut alors que sont de plus en plus impliqués d'autres circuits de neurotransmission comme celui du glutamate. En clinique, les patients atteints de schizophrénie ont une grande propension à consommer des substances, particulièrement du cannabis. Nous avons cherché à étayer l'hypothèse d'un désordre du système cannabinoïde endogène, un important neuromodulateur.

Ce mémoire propose d'abord dans un premier article une revue exhaustive de la littérature explorant le système endocannabinoïde et ses implications dans la schizophrénie. Puis, nous exposons dans un second article les résultats d'une recherche clinique sur les endocannabinoïdes plasmatiques dans trois groupes de sujets avec schizophrénie et/ou toxicomanie, pendant 12 semaines. Nous avons observé un effet miroir de deux ligands endocannabinoïdes, l'anandamide et l'oleylethanolamide, qui étaient élevés chez les patients avec double diagnostic et abaissés chez les toxicomanes, au début de l'étude. Au terme de l'étude, l'élévation des endocannabinoïdes s'est maintenue et nous avons supposé un marqueur de vulnérabilité psychotique dans un contexte de consommation.

Finalement, nous avons analysé les résultats en les intégrant aux connaissances moléculaires et pharmacologiques ainsi qu'aux théories neurochimiques et inflammatoires déjà développées dans la schizophrénie. Nous avons aussi tenu compte des principales comorbidités observées en clinique: la toxicomanie et les troubles métaboliques. Cela nous a permis de proposer un modèle cannabinoïde de la schizophrénie et conséquemment des perspectives de recherche et de traitement.

Mots-clés: endocannabinoïdes, anandamide, oleylethanolamide, schizophrénie, dopamine, glutamate, psychose, toxicomanie.

Abstract

Schizophrenia is a complex disease that has 1% worldwide prevalence. Dopamine etiological theory leads neurochemical paradigms although glutamate hypothesis is gaining in importance among several neurotransmission circuits involved. Schizophrenia patients are more prone to substance use disorders, particularly to cannabis dependence, than the general population. Therefore, we have aimed to explain the hypothesis of a deregulation in the endogenous cannabinoid system, a very important neuromodulator.

First, this thesis proposes in the first article an exhaustive literature review on the endocannabinoid system and its implications in schizophrenia. Then, we present results from our clinical research on plasmatic endocannabinoids in three groups of subjects with schizophrenia and/or substance use disorders, during twelve weeks. We have observed a mirror effect involving two endocannabinoid ligands, anandamide and oleylethanolamide, which were elevated in patients with dual diagnosis and reduced in patients with only substance use disorders. At the end of the study, it seems that endocannabinoid elevation was maintained and we supposed a vulnerability to psychosis in a substance use disorder context.

Finally, we analyzed our results by integrating explanations from molecular biology and neuropharmacology and also from neurochemical and inflammatory theories already well-known in schizophrenia. We also considered the main comorbidities observed in clinic such as substance use and metabolic disorders. Then, we proposed an endogenous cannabinoid model of schizophrenia. Ultimately, this thesis suggested research perspectives and potential treatments.

Key words: endogenous cannabinoid, anandamide, oleylethanolamide, schizophrenia, glutamate, psychosis, substance use disorder

Table des matières

Résumé.....	iv
Abstract.....	v
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations	x
Remerciements.....	xi
1. Introduction.....	1
1.1 La schizophrénie et les différentes théories étiologiques.....	1
1.1.1 La dopamine.....	2
1.1.2 Le glutamate.....	4
1.1.3 Autres circuits de neurotransmission	8
1.1.4 Hypothèses neuroendocriniennes et inflammatoires.....	10
1.2 Schizophrénie et comorbidités.....	14
1.2.1 Schizophrénie: cannabis exogène et endogène.....	14
1.2.2 Comorbidités: à la recherche d'un lien neurobiologique et pertinence clinique.....	16
1.3 Objectifs du mémoire.....	18
2. Article 1: Endocannabinoids and Schizophrenia.....	20
3. Article 2: Plasma endocannabinoid alterations in individuals with substance use disorder are dependent on the mirror effect of schizophrenia.....	77
4. Méthodologie	103
4.1.1 La méthode en laboratoire.....	103
4.1.2 Biais des valeurs périphériques.....	106
5. Discussion: synthèse et intégration.....	112
5.1 Synthèse du système endocannabinoïde et principales implications.....	113
5.1.1 Système endocannabinoïde: acteurs et communication synaptique.. ..	113
5.1.2 Système endocannabinoïde: neuromodulation.....	119
5.1.3 Système endocannabinoïde: modèles de schizophrénie.....	124
5.1.4 Système endocannabinoïde: récompense et consommation.....	133
5.1.4.1 Dépendance et allostasie.....	134
5.1.4.2 Système de récompense et endocannabinoïdes.....	135
5.1.4.2.1 Variations selon les étapes de consommation.....	137
5.1.4.2.2 Rôle selon différentes substances.....	140
5.1.4.2.2.1 Cannabis exogène.....	141
5.1.4.2.2.2 Opioïdes.....	144
5.1.4.2.2.3 Alcool.....	145
5.1.4.2.2.4 Psychostimulants.....	146
5.1.4.2.2.5 Nicotine.....	147
5.1.4.3 Dépendance aux drogues et système glutamatergique.....	148

5.1.4.4 Consommation et changements neuroendocriniens.....	151
5.1.5 Système endocannabinoïde: métabolisme	152
5.2 Intégration: hypothèses endocannabinoïdes dans la schizophrénie et comorbidités.....	157
5.2.1 Effet miroir de la consommation sur les valeurs endocannabinoïdes.....	158
5.2.1.1 Hypothèses pharmacologiques de l'effet miroir: agonisme partiel.....	159
5.2.1.2 Altérations de la neurotransmission: médication.....	164
5.2.1.3 Altérations de la neurotransmission: toxicomanie.....	165
5.2.1.4 Variations OEA et AEA: hypothèses enzymatiques.....	168
5.2.1.4.1 Enzyme FAAH.....	170
5.2.1.5 Effet miroir de OEA et métabolisme.....	171
5.2.1.6 Effet miroir: implication des récepteurs.....	173
5.2.1.7 Effet miroir et hypothèses inflammatoires.....	174
5.2.1.8 Effet miroir et allostasie.....	175
5.2.2 Schizophrénie: modèle de compréhension endocannabinoïde.....	176
6. Perspectives.....	181
6.1 Signatures biologiques.....	181
6.2 Traitement pharmacologique	184
6.2.1 Traitement potentiel des symptômes psychotiques	185
6.2.2 Traitement potentiel de la dépendance aux drogues.....	198
7. Conclusion	205
Bibliographie.....	209

Liste des tableaux

Tableau I	117
------------------------	-----

Le système endocannabinoïde: ligands et récepteurs

Tableau II	144
-------------------------	-----

Hypothèses pharmacologiques: les effets des ligands THC et anandamide selon les principaux récepteurs

Liste des figures

Figure 1	126
Modèle adaptatif: anandamide, dopamine et symptômes psychotiques	
Figure 2	154
Le système endocannabinoïde et les influences périphériques sur le métabolisme	
Figure 3	155
Ligands endocannabinoïdes et principales hormones impliqués dans le système de récompense et voies hypothalamiques balançant le contrôle métabolique	
Figure 4:	163
Modèle adaptatif: influence de la consommation selon une vulnérabilité psychotique et impliquant l'anandamide et l'OEA et différents récepteurs cannabinoïdes	
Figure 5:	178
Modèle endocannabinoïde de la schizophrénie: mécanismes protecteurs intégrant les différents récepteurs et les systèmes dopaminergique et glutamatergique	

Liste des abréviations

2-AG: 2-arachidonoylglycerol
5-HT: sérotonine
AA: acide arachidonique
ACh: acétylcholine
AEA: anandamide
AINS: anti-inflammatoires non-stéroïdiens
AMPA: A-amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4- proprionique
CB1: récepteur cannabinoïde type 1
CB2: récepteur cannabinoïde type 2
CBD: cannabidiol
COX: cyclooxygénase
CYP: cytochrome P-450
DA: dopamine
ECB: endocannabinoïde
FAAH: hydrolase acides gras aminés
GABA: acide γ -aminobutyrique
Glu: glutamate
HHS: hypothalamo-hypophyso-surrénalien
LCR: liquide céphalo-rachidien
LOX: lipooxygénase
OEA: oleylethanolamide
NADA: N-arachidonoyl-dopamine
NAE: acylethanolamides
NE: norépinéphrine
NMDA: N-méthyl-D-aspartate
PCP: phencyclidine
PEA: palmithylethanolamide
PET: tomographie par émissions de positrons
PG2: prostaglandine 2
PPAR: récepteur activé par les proliférateurs de peroxisome
SNC: système nerveux central
THC: tétrahydrocannabinol
TRPV1: récepteur à potentiel transitoire de type vanilloïde

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pu être possible sans le soutien de mes proches. Ils ont su m'épauler et m'encourager au quotidien me permettant d'affronter l'ensemble des responsabilités professionnelles et de maintenir une vie enrichissante. La présence et l'amour de mon conjoint, Badih Boustany, ont été essentiels à mon équilibre personnel et à mon actualisation. Je tiens à remercier mes parents pour leurs encouragements et leur fierté devant mon cheminement personnel et professionnel. Ils ont toujours su que j'atteindrais les objectifs fixés, comme ils me l'ont appris. Mes amis m'ont également offert leur fidélité me permettant d'affronter les rigueurs de plusieurs exigences de travail et les sacrifices pour y parvenir. J'ai aussi été encouragée par mes collègues résidents et psychiatres du département de psychiatrie dans mes démarches de maîtrise en recherche parallèlement aux études de résidence en psychiatrie.

Par ailleurs, je remercie sincèrement Stéphane Potvin, chercheur, qui m'a fourni une grande aide et de précieux conseils, en plus de me communiquer sa motivation et sa passion. Ce fut un partage très apprécié. Je remercie également mes directeurs de maîtrise, Dr Lahcen Ait Bentaleb et Dr Emmanuel Stip, qui dès le début de ma résidence ont cru en mon potentiel en recherche et m'ont incitée à y croire à mon tour. Ma reconnaissance va aussi aux collègues du Centre de recherche Fernand-Seguin et du laboratoire de chimie de l'Université de Montréal qui ont collaboré aux recherches et partagé mon intérêt pour les endocannabinoïdes.

Finalement, ce mémoire a été possible également grâce aux organismes subventionnaires, tels les Instituts de Recherche en Santé du Canada (bourse d'études supérieures Frédérick Banting-Charles Best), le département de sciences biomédicales de l'Université de Montréal, la chaire québécoise de recherche en schizophrénie et le fonds Astra Zeneca pour la recherche en toxicomanie.

1. Introduction

1.1 La schizophrénie et les différentes théories étiologiques

La schizophrénie est une maladie psychiatrique complexe, sévère et persistante. Elle a une prévalence à vie se chiffrant à 0,87%¹ dans la population générale et est considérée comme une des principales causes mondiales menant à une invalidité fonctionnelle². Elle se manifeste par des déficits des processus de la pensée, des troubles de la perception et des altérations de la réponse émotionnelle. Dès le 19^e siècle, Emil Kraepelin décrivait cette maladie d'un point de vue dégénératif, *dementia precox*, et mettait l'accent sur les symptômes cognitifs, les hallucinations et les délires. Bleuler, partisan d'une vision neurodéveloppementale, a pour sa part employé le mot *schizophrénie*, décrivant un schisme entre les différents domaines de la pensée, des émotions et du comportement. Il considérait les hallucinations et les délires comme des symptômes secondaires et décrivait quatre symptômes primaires: autisme, ambivalence, affect, association. De nos jours, dans le manuel diagnostique et statistique des maladies mentales (DSM-IV)³, la schizophrénie doit comporter deux caractéristiques parmi les suivantes: idées délirantes, hallucinations, comportement désorganisé, symptômes négatifs (affect plat, anhédonie, retrait social, apathie, avolition, alogie). Les symptômes dits *positifs* ajoutent soit des délires, des hallucinations ou un comportement désorganisé, symptômes absents chez les gens qui ne souffrent pas de la maladie. Les symptômes *négatifs* tendent plutôt à représenter des éléments présents chez les individus sains et qui sont déficitaires chez les patients atteints de schizophrénie. Or, la vision actuelle de la schizophrénie tend à ramener les symptômes cognitifs comme élément central de la maladie. En effet, les dysfonctions exécutives et la mauvaise attribution

sociale précèdent souvent la psychose, sont stables au fil du temps et peu affectées par le traitement antipsychotique⁴. Il y a notamment une corrélation étroite entre la performance cognitive et le pronostic fonctionnel^{5,6}.

Le modèle de vulnérabilité et de stress permet un schéma de compréhension de cette complexe maladie soulevant l'interaction entre un ou des facteurs de vulnérabilité, notamment des altérations génétiques, et la survenue d'un ou plusieurs stress qui précipitent la maladie. Selon des études épidémiologiques, la variance génétique responsable de la schizophrénie a été estimée à 81% (IC 95%, 73%-90%)⁷. La schizophrénie est une maladie polygénique avec une transmission complexe, non-mendélienne. On retrouve des endophénotypes transmis à l'intérieur des familles à risque, telle que la diminution de l'inhibition des potentiels évoqués (P50)⁸.

1.1.1 La dopamine

Au plan étiologique, parmi les hypothèses neurochimiques, la dopamine (DA) figure encore comme dérèglement central expliquant les différents symptômes. L'origine de cette hypothèse se base entre autres sur l'effet connu des drogues psychostimulantes telles que les amphétamines qui peuvent recréer un tableau psychotique, tout comme le traitement avec des précurseurs de la dopamine (Levodopa). Nous nous rappelons également la découverte fortuite en 1952 de la chlorpromazine, agent anesthésique qui agit sur le récepteur à dopamine D2. Suite à son usage comme anesthésiant, ses propriétés antipsychotiques avaient été remarquées, ce qui a tracé la voie aux recherches pharmacologiques ciblant le système dopaminergique. Les bénéfices des

antipsychotiques actuels relèvent encore d'un antagonisme des récepteurs D2. De plus, les études *post-mortem* ont démontré une augmentation des niveaux de dopamine et ses métabolites chez les patients avec un trouble psychotique. Les imageries *in vivo* ont aussi relevé une plus grande relâche de dopamine dans les synapses chez les schizophrènes. Des anomalies du mécanisme métabolique, du stockage pré-synaptique, de la relâche et de la recapture de la dopamine par imagerie par émissions de positrons (PET), ainsi qu'une augmentation de la densité des récepteurs ont été retrouvées chez des patients schizophrènes naïfs aux antipsychotiques ⁹⁻¹¹.

La théorie dopaminergique s'appuie sur différentes données probantes indirectes et tend davantage à éclairer la symptomatologie *positive*, alors que les explications des autres symptômes demeurent controversées. Ainsi, les symptômes *positifs* s'expliquent par un hyperdopaminergisme dans la voie mésolimbique, alors que les symptômes *négatifs* relèvent d'un manque de dopamine dans la voie mésocorticale^{12, 13}. D'une part, les symptômes cognitifs sont plus particulièrement associés à un hypodopaminergisme dans le cortex préfrontal dorsolatéral, d'autre part, les symptômes affectifs relèvent du cortex préfrontal ventromédial. Les autres voies du système dopaminergique, les voies tubéroinfundibulaires et nigrostriées, ne semblent pas être touchées par la maladie mais plutôt par l'ajout des antipsychotiques bloquant le récepteur D2. L'augmentation de l'activité dopaminergique dans la voie striée est considérée comme la voie commune finale dans la psychose¹⁴.

Ainsi, face à l'hypothèse centrale dopaminergique, l'approche pharmacologique par la dopamine est celle qui prévaut encore. Les antipsychotiques actuels parviennent à atténuer les symptômes *positifs* principalement par le blocage de la transmission dopaminergique dans la région mésolimbique. Les antipsychotiques atypiques offrent entre autres un antagonisme des récepteurs D2 avec une affinité moindre que celle des antipsychotiques typiques et certains d'entre eux offrent une liaison plus relâchée atténuant les effets secondaires moteurs. Ils procurent aussi certains avantages en agissant sur les récepteurs à sérotonine (antagonisme 5-HT_{2A}), à acétylcholine (ACh) et à noradrénaline. Or, ils ne parviennent pas toujours à des réponses concluantes cliniquement, notamment en ce qui a trait aux symptômes négatifs et cognitifs. En effet, plusieurs patients sont réfractaires aux traitements actuels. L'approche thérapeutique privilégiée oriente l'attention sur la dopamine alors que l'on connaît d'autres phénomènes neurochimiques possiblement à la source du problème de la schizophrénie. L'hyperactivité dopaminergique est peut-être secondaire à un dérèglement primaire de certains autres systèmes de neurotransmetteurs ou neuromodulateurs ^{15, 16}.

1.1.2 Le glutamate

Depuis quelques années, le système glutamatergique a été identifié comme un élément majeur dans le développement de la schizophrénie ¹⁷. L'hypothèse de l'hypofonctionnement du récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA) semble être celle qui ressort parmi les études. L'origine du questionnement remonte aux observations cliniques avec la phencyclidine (PCP) et la kétamine, antagonistes non compétitifs du récepteur NMDA, précipitant les sujets sains en psychose et exacerbant les symptômes

psychotiques chez les patients schizophrènes. Le PCP est devenu un des meilleurs modèles pharmacologiques de la schizophrénie. Contrairement aux agents dopaminergiques, comme l'amphétamine, qui recréent seulement des symptômes psychotiques dits *positifs*, les antagonistes NMDA entraînent aussi des symptômes *négatifs*, tels que l'abaissement de la motivation et la diminution d'interactions sociales et des symptômes cognitifs, tels que des troubles de mémoire. De plus, les habiletés analgésiques puissantes de la kétamine laissent présager une explication au seuil de douleur augmenté chez les schizophrènes^{18, 19}. Ces données suggèrent un rôle des récepteurs NMDA pour expliquer plusieurs facettes de la schizophrénie.

Pour expliciter davantage les symptômes, plusieurs auteurs relèvent l'ambiguïté théorique et la dualité des états glutamatergiques dans la schizophrénie. Une première théorie stipule qu'il y a un hypoglutamatergisme global secondaire à l'hypofonctionnement du récepteur NMDA. De même, en potentialisant la dépolarisation au niveau du récepteur A-amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionique (AMPA), indirectement, il y aurait amélioration de la transmission déficiente au récepteur NMDA et donc une atténuation des symptômes²⁰. Toutefois, il n'y aurait pas d'efficacité prouvée de tels agonistes AMPA en clinique, hormis une synergie avec les antipsychotiques. Une seconde théorie stipule plutôt que les symptômes seraient secondaires à une hyperactivité rebond du glutamate aux récepteurs non-NMDA (AMPA). Par exemple, un antagoniste des récepteurs AMPA/kainate, LY293558, diminue de façon notable les effets du PCP chez les rats²¹.

Par ailleurs, le glutamate est abaissé dans le liquide céphalo-rachidien des patients schizophrènes ²². Les recherches post-mortem ont démontré des anomalies des transporteurs et des protéines de la neurotransmission glutamatergique, des altérations dans la densité des récepteurs à glutamate et dans la composition des sous-unités dans le cortex préfrontal, le thalamus et le lobe temporal. Fait intéressant qui affecte la neurotransmission NMDA, le kynurénate, un antagoniste endogène du récepteur ionotropique à glutamate, est élevé dans le cortex de schizophrènes décédés alors que le glutathion est faible ²³. Nous savons aussi que, chez les rats, une augmentation d'acide kynurénique entraîne une augmentation de la décharge phasique des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale ²⁴. De plus, il y a aussi des démonstrations que NAAG (N-acetyl-aspartyl glutamate), un antagoniste de NMDA, soit augmenté dans l'hippocampe ²⁵ alors que GCP II, une enzyme de dégradation du glutamate carboxypeptidase II, serait diminuée dans les cortex frontal et temporal et dans l'hippocampe. Enfin, les co-agonistes NMDA glycine ²⁶ et D-serine ²⁷ seraient abaissés dans le plasma des schizophrènes.

En outre, tel que décrit ci-haut, l'hérédité de la schizophrénie est importante. Les études génétiques ont identifié des candidats principalement associés au récepteur NMDA. Par exemple, au niveau de la neurotransmission, il y a une enzyme qui dégrade la D-serine dans le cerveau (DAAO: D-amino acid oxidase) et qui serait corrélée avec la schizophrénie, tout comme G72/G30, une protéine régulant DAAO. D'autres gènes

codant pour le récepteur à glutamate NMDA, comme celui de la sous-unité NR2, semblent impliqués. Finalement, il y a ceux qui ont un rôle dans le développement des neurones (neuregulin, dysbindin, BDNF, DISC (*disrupted in schizophrenia*), RGS4, GRM3), convergeant vers le modèle d'un état hypoglutamatergique.

Ainsi, les recherches pharmacologiques avec les antagonistes NMDA, l'imagerie cérébrale, les investigations *post-mortem* et les études génétiques viennent tour à tour corroborer l'importance de l'atteinte de la neurotransmission du récepteur NMDA. La symptomatologie associée à la schizophrénie pourrait en fait être une conséquence de la déconnexion d'une voie importante du glutamate, celle reliant le cortex préfrontal (principalement des neurones pyramidaux de la couche laminaire 5) au tronc cérébral et régulant la relâche de neurotransmetteurs. Cette voie pourrait expliquer la validité de l'hypothèse de l'hypofonctionnement du NMDA. En effet, elle agit sur le noyau raphé (sérotonine), le locus ceruleus (norépinéphrine), la substance noire (DA) et l'aire tegmentaire ventrale (DA). L'activité des neurones dopaminergiques est régulée par des projections glutamatergiques, originant des noyaux sous-thalamiques, de l'amygdale et du cortex préfrontal. Par exemple, dans le striatum et dans l'aire tegmentaire, les projections corticales glutamatergiques viennent normalement stimuler les neurones dopaminergiques du système mésolimbique et préférentiellement mésocortical. Il y a habituellement une inhibition tonique de la dopamine en mésolimbique indirectement via les récepteurs NMDA sur les interneurons GABA (acide γ -aminobutyrique) de l'aire tegmentaire ventrale et sur les neurones GABA striato-mésencéphaliques. Ce

mécanisme inhibiteur s'active lorsqu'il y a hyperactivité dopaminergique. Le récepteur NMDA moins performant entraînerait une perte de ce frein sur la voie mésolimbique. Ainsi, une hypofonction du glutamate entraînerait une réduction persistante de la décharge tonique de DA, une diminution résultante de la stimulation des autorécepteurs et donc une décharge plus grande de DA dans les synapses des neurones du striatum ventral amenant les symptômes positifs de la psychose. Une interaction entre la DA et le glutamate s'effectuerait à travers la convergence synaptique ou extra-synaptique des systèmes dopaminergiques et glutamatergiques sur des neurones communs. Le circuit neurobiologique sous-jacent à la psychose et impliquant le mésencéphale, le cortex préfrontal et le striatum nécessite des relais entre la dopamine et le glutamate. C'est ce qui est appelé la triade synaptique ²⁸, retrouvée plus particulièrement dans le striatum dorsal des primates au niveau des épines dendritiques entre les projections glutamatergiques descendantes du cortex préfrontal et les projections mésencéphaliques dopaminergiques ascendantes.

1.1.3 Autres circuits de neurotransmission

Par ailleurs, en plus de la dopamine et du glutamate, systèmes centraux dans la schizophrénie, plusieurs autres neurotransmetteurs semblent avoir un rôle à jouer: le GABA, la sérotonine (5-HT) et l'acétylcholine (ACh) ²⁹. Ils font tous partie intégrante d'un système de circuits pathologiques entraînant la schizophrénie. Alors que le système sérotoninergique n'est pas encore corrélé directement à des éléments étiologiques ³⁰, des données probantes s'accumulent pour d'autres systèmes. Par exemple, le système

cholinergique offre quelques pistes de compréhension et ce, particulièrement pour les déficits cognitifs. Le *sensory gating* ou contrôle inhibiteur de la réponse neuronale est en fait un ajustement du cerveau en réponse à des stimuli. La dysfonction des récepteurs nicotiniques α -7 semble mener à une altération du *sensory gating* auditif dans la schizophrénie avec une mauvaise suppression P50, un processus cholinergique³¹. Il s'agit d'un déficit amélioré par la clozapine, antipsychotique atypique, et la consommation de nicotine³². Une majorité d'études ont relié la schizophrénie à un locus sur le même chromosome que le gène des récepteurs nicotiniques α -7, locus préalablement relié au déficit de suppression P50^{33, 34}. De plus, des données suggèrent des altérations de la neurotransmission cholinergique muscarinique centrale dans la physiopathologie de la schizophrénie. Les récepteurs à acétylcholine muscariniques de type M1 sont les plus répandus dans le système nerveux central (SNC) et sont exprimés dans le striatum, en post-synaptique sur les neurones pyramidaux de l'hippocampe et les cellules granuleuses³⁵⁻³⁸. Un des effets les plus importants de l'activation des récepteurs muscariniques M1 est la potentialisation dans l'hippocampe et dans les régions préfrontales de la transmission du glutamate par les récepteurs NMDA (NMDAR)³⁷. On leur confère des fonctions dans la régulation de la cognition et des circuits neuronaux altérés dans la schizophrénie³⁹. D'une part, des ligands sélectifs au récepteur M1 atténuent les symptômes psychotiques et les déficits cognitifs par la stimulation de la neurotransmission au récepteur NMDA. D'autre part, des souris avec invalidation génique de M1 ont démontré des déficits cognitifs relevant du cortex préfrontal médian⁴⁰ et aussi une augmentation de l'activité motrice spontanée et induite par les

amphétamines, associée à une double augmentation de DA extracellulaire dans le striatum^{41, 42}. Ainsi, le récepteur muscarinique M1 module la DA et le glutamate.

De plus, un désordre de la transmission GABA figure aussi au rang des hypothèses pathogéniques. Des études *post-mortem* chez des patients schizophrènes ont démontré une diminution des niveaux de l'expression GABA dans le cortex préfrontal tel que mesuré par les niveaux d'ARNm de l'acide glutamique decarboxylase (GAD), responsable de la synthèse du GABA⁴³. Les récepteurs GABA_A sont régulés à la hausse⁴⁴, peut-être de façon compensatoire. Ces désordres du système GABA peuvent expliquer la mauvaise synchronie neurale et les déficits dans la mémoire de travail des schizophrènes⁴⁵.

Au plan des perturbations structurales, de façon plus globale et altérant plusieurs systèmes à la fois, le thalamus et le cervelet semblent avoir gagné de plus en plus de popularité au plan pathogénique en raison de leur rôle de coordination des circuits atteints dans la schizophrénie^{46, 47}.

1.1.4 Hypothèses neuroendocriniennes et inflammatoires

Parmi les facteurs physiopathologiques contributifs, nous retrouvons aussi les altérations neuroendocriniennes telles que l'hypercortisolémie et la dysfonction de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS). Comme les facteurs de stress précipitent

souvent les épisodes aigus de la psychose, nous rejoignons ici la perspective vulnérabilité-stress pouvant être sous-jacente à la schizophrénie sans être directement étiologique. Une revue systématique de l'incidence de la suppression anormale au test de dexaméthasone a relevé l'hyperactivation de l'axe HHS chez des schizophrènes par rapport à des contrôles ⁴⁸. Nous savons également que le stress chronique peut entraîner des altérations dans l'hippocampe, une région cérébrale affectée dans les premières phases des troubles psychotiques ⁴⁹⁻⁵¹.

Au nombre des hypothèses s'ajoute également celle des phospholipides selon laquelle la schizophrénie est décrite comme un désordre systémique impliquant une altération des membranes lipidiques ⁵². Cette altération peut être reliée à la transmission monoaminergique, principalement à la dopamine, et on lui confère une importance dans les déficits cognitifs⁵². Les lipides composent environ 50% du poids net du cerveau humain et la majorité sont des phospholipides⁵³. Les hypothèses phospholipidiques offrent l'avantage de réunir plusieurs disparités phénotypiques de la schizophrénie^{54, 55}. L'acide arachidonique (AA) est relâché à partir des membranes de phospholipides et peut être converti en divers métabolites, les eicosanoïdes, par la cyclooxygenase (COX), lipoxygenase (LOX) et cytochrome P-450 (CYP). La série de prostaglandine-2 (PG₂) est une classe d'eicosanoïdes issue de l'acide arachidonique et impliquée dans la conduction nerveuse, la relâche de neurotransmetteurs, l'inflammation, la douleur, les réponses immunitaires⁵⁶. La prostaglandine E2 (PGE-2) est un type de prostaglandine plus avancé dans la cascade de dégradation et nécessitant l'intervention de la

prostaglandine E synthase. La PGE2 est relâchée par les vaisseaux sanguins en réponse à l'infection ou l'inflammation du SNC, induisant la fièvre. L'élévation de prostaglandine E2 (PGE2) est liée à la transmission et au métabolisme du glutamate, la relâche et la synthèse de cytokines et la réponse de l'axe HHS⁵⁷. Des niveaux plasmatiques plus élevés de PGE2 ont été retrouvés dans la schizophrénie⁵⁸ par rapport à des contrôles⁵⁹, tout comme une activation plus élevée de COX-2⁶⁰. À l'inverse, les niveaux des marqueurs anti-inflammatoires 15-d-PGJ2 étaient significativement abaissés ($p=0.004$) et corrélés avec une expression plus basse des récepteurs activés par des proliférateurs de peroxyosomes, de type γ (PPAR- γ)⁵⁹. La schizophrénie serait donc associée à un déséquilibre inflammatoire en faveur des marqueurs pro-inflammatoires. Les voies reliées au COX offrent des avenues potentielles thérapeutiques plus récemment étudiées dans la schizophrénie. En effet, des inhibiteurs de COX-2 dans une étude prospective randomisée à double insu ont amélioré des déficits cognitifs chez des patients schizophrènes⁶¹. Dans la schizophrénie, les niveaux de AA sont abaissés, menant à une diminution des eicosanoïdes^{55, 62}. Des éléments phénotypiques de la schizophrénie y semblent reliés, tels que le risque plus faible d'arthrite et de maladies inflammatoires et la plus grande résistance à la douleur^{63, 64}. Nous pouvons ainsi parler de l'hypothèse de signalisation eicosanoïde anormale dans la schizophrénie.

De plus, la théorie inflammatoire s'appuie notamment sur des études avec tomographie par émissions de positons (PET) démontrant l'activation de la microglie dans la substance grise pendant les épisodes psychotiques chez des patients schizophrènes^{65, 66}.

Des anomalies de la substance blanche et grise, une perte de connexion axonale et de l'atrophie sont associées à la schizophrénie^{67, 68}. L'activation microgliale est en soi un marqueur inflammatoire du cerveau qui entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires et de radicaux libres. Dans la schizophrénie, on retrouve typiquement des caractéristiques neuroinflammatoires telles que la dégénérescence des oligodendrocytes et des neurones, la perte de cellules gliales par apoptose, la réduction de facteurs trophiques et une neurogénèse altérée. Au plan immunitaire, la schizophrénie est associée parfois à un débalancement immunitaire en faveur de l'immunité humorale (Th2) par rapport à l'immunité cellulaire (Th1). Or, la schizophrénie a aussi été associée à une augmentation *in vivo* des cytokines inflammatoires IL-1RA, sIL-2R et IL-6 tel que démontré dans une méta-analyse⁶⁹. La normalisation des cytokines pro-inflammatoires par des antipsychotiques typiques et atypiques a été corrélée à la rémission des symptômes psychotiques appuyant l'hypothèse microgliale de la schizophrénie⁷⁰.

Ainsi, les théories étiologiques sont associées à des désordres de neurotransmission, mais différents facteurs pathogéniques énumérés ci-hauts sont fortement contributifs. Une vision neurochimique intégrative de la schizophrénie se rattache à la théorie de déconnexion⁷¹ qui se rapproche du clivage des domaines mentaux de Bleuler. On tend maintenant à identifier au centre de la pathologie un dysfonctionnement du cortex préfrontal entraînant ensuite une déconnexion corticale-sous-corticale. La déconnexion reflète la modulation anormale des différents neurotransmetteurs (DA, ACh, 5-HT) par le récepteur NMDA moins performant et entraînant un défaut de plasticité cérébrale.

L'altération du fonctionnement du récepteur NMDA peut s'effectuer de différentes façons, soit au niveau des propriétés du récepteur lui-même (phosphorylation, endocytose), soit au niveau électrophysiologique, soit au niveau génétique, ou tout simplement au niveau des processus cellulaires et des projections axonales. Ainsi, les altérations dans la balance glutamatergique et GABAergique entraînent ensuite une modification des circuits dopaminergiques et conséquemment des symptômes psychotiques. Nous assistons vraisemblablement à un changement de paradigme étiologique et thérapeutique de la schizophrénie et il devient nécessaire d'obtenir de meilleurs modèles de compréhension. Ainsi, il nous apparaît pertinent d'offrir une analyse de différents systèmes endogènes qui régulent particulièrement la neurotransmission du glutamate et de la dopamine.

1.2 Schizophrénie et comorbidités

1.2.1 Schizophrénie: cannabis exogène et endogène

La réflexion visitant la physiopathologie de la schizophrénie s'appuie d'une part, sur la connaissance des voies et complexités de la neurotransmission puis, d'autre part, elle se fonde aussi sur l'observation de phénomènes cliniques comorbides. Ainsi, à partir de ces observations cliniques, des hypothèses physiopathologiques s'ajoutent aux connaissances actuelles. D'abord, les patients présentant atteints de schizophrénie ont une forte propension à consommer du cannabis. La prévalence à vie serait de 25%⁷². Le cannabis vient du mot grec désignant le chanvre et réfère à la fleur du plant de chanvre (*cannabis sativa*). Le Δ^9 -THC (tétrahydrocannabinol) est le principal agent psychoactif

du cannabis. Le terme cannabinoïde désigne toutes les molécules structurellement reliées au Δ^9 -THC alors que les endocannabinoïdes sont des substances structurellement reliées au cannabis et produites de façon endogène. Le cannabis a pour cible principale les récepteurs cannabinoïdes type 1 (CB1) en désensibilisant ou en diminuant la quantité de récepteurs suite à une consommation chronique. Le cannabis affecte le rôle modulateur du système endocannabinoïde (ECB), particulièrement dans le cortex préfrontal ce qui altère la communication entre les structures corticales et sous-corticales (Glu, DA et GABA) et rejoint la théorie de déconnexion énoncée précédemment. Les études épidémiologiques suggèrent aussi une association entre la consommation de cannabis et la schizophrénie. Or, les données épidémiologiques sont limitées quant à l'interprétation des phénomènes de causalité ou d'association. Il apparaît nécessaire d'explorer les processus neurobiologiques pour en comprendre davantage les implications. Ainsi, devant l'importante prévalence de consommation de cannabis chez les patients schizophrènes, nous pouvons nous interroger à savoir s'il existe un dysfonctionnement des cannabinoïdes endogènes chez ces patients. Cela permettrait possiblement d'établir un lien en clinique entre ce dysfonctionnement et les symptômes psychotiques.

Dans la même optique, le système endocannabinoïde (ECB) est un important modulateur de différents neurotransmetteurs et régule particulièrement le système glutamatergique ⁷³. En ce sens, il offre une neuroprotection contre la toxicité glutamatergique, mais ses interactions sont beaucoup plus complexes. Les

endocannabinoïdes (ECB), principalement anandamide et 2-arachidonoylglycerol (2-AG), sont des ligands endogènes issus de précurseurs de phospholipides. Ils se lient notamment aux récepteurs cannabinoïdes (CB1 et CB2). Le récepteur CB1 est plus dense dans le cortex préfrontal, l'hippocampe et les noyaux gris centraux, régions atteintes dans la schizophrénie. Cette maladie est aussi associée au polymorphisme du gène du récepteur CB1. De plus, l'anandamide est élevé dans le sang chez des sujets schizophrènes et est particulièrement élevé dans le liquide céphalo-rachidien durant le prodrome de la schizophrénie. Par ailleurs, parmi les antipsychotiques atypiques, la clozapine a modifié la densité du récepteur CB1 dans le noyau accumbens du rat alors que la quétiapine n'a pas modifié les endocannabinoïdes chez des sujets schizophrènes toxicomanes. Comme les schizophrènes et les toxicomanes partagent le même système cérébral de récompense impliquant les endocannabinoïdes, la consommation influence fort possiblement les cannabinoïdes endogènes. Le système ECB sera davantage détaillé dans l'article de revue de littérature. Certes, il offre des liens forts pertinents avec l'ensemble des modèles étiologiques et pathogéniques proposés, d'où l'intérêt de l'étudier davantage dans la schizophrénie et ses comorbidités.

1.2.2 Comorbidités: à la recherche d'un lien neurobiologique et pertinence clinique

La réflexion proposée ici prend aussi comme point de départ la recherche de phénomènes neurobiologiques explicatifs sous-jacents au regroupement des comorbidités fréquemment associées avec la schizophrénie: la toxicomanie et le syndrome métabolique. Effectivement, la schizophrénie est une maladie psychiatrique

mais elle rejoint plusieurs autres systèmes et spécialités médicales telles que la neurologie, l'immunologie, l'endocrinologie et la toxicomanie. Ainsi, nous proposons un travail d'exploration au-delà des connaissances dopaminergiques et l'élaboration d'une connexion neurobiologique permettant de mieux comprendre les étroites relations entre la schizophrénie, maladie complexe et hétérogène, et les manifestations comorbides. D'autre part, les besoins cliniques sont criants pour considérer les différentes facettes d'une maladie très complexe et améliorer les effets modestes des traitements actuels notamment pour les symptômes négatifs et cognitifs. Éventuellement, une meilleure compréhension neurobiologique ouvrirait la voie à une approche thérapeutique alternative et conséquente avec les phénomènes physiopathologiques.

Ainsi, nous considérons qu'il y a une pertinence clinique à étayer la connaissance des endocannabinoïdes, notamment en lien avec le dysfonctionnement des autres neurotransmetteurs entraînant l'altération des principaux circuits. Cela permet d'améliorer d'une part la compréhension physiopathologique de la schizophrénie et ses comorbidités telles que la toxicomanie, le diabète, la dyslipidémie, les troubles cognitifs. Cela permet aussi une meilleure compréhension des effets néfastes de la consommation sur les circuits neuropsychiatriques. Le caractère innovateur de ce système neurobiologique permet d'envisager des perspectives de recherche très intéressantes. Les endocannabinoïdes, par leur nature lipidique et leur fonction neuroendocrinienne et neuromodulatrice, sont au coeur de plusieurs systèmes physiologiques tels que le

métabolisme, la régulation de l'appétit et le système de récompense. Particulièrement en neurosciences, la connaissance des lipides dans le cerveau nous renseigne sur plusieurs rôles contribuant à la communication intra et trans-cellulaire⁷⁴. Dans le cerveau, les lipides forment des structures membranaires complexes en raison de leurs caractéristiques hydrophobiques. Ils influencent donc les fonctions cérébrales indirectement en altérant l'organisation supra-moléculaire et les propriétés géométriques des membranes neuronales et gliales, puis également de façon directe en agissant comme ligands aux protéines, canaux ioniques et récepteurs. Ces biomolécules ont l'avantage d'utiliser les membranes comme outil de conduction plutôt que comme barrière. Ainsi, nous avons tout intérêt à élargir les connaissances neurobiologiques, avec un regard spécifique sur les lipides cannabinoïdes endogènes à la recherche de voies unissant métabolisme, toxicomanie et schizophrénie.

1.3 Objectifs du mémoire

Dans ce mémoire, nous proposons donc comme objectif principal l'exploration des données probantes unissant les cannabinoïdes endogènes et la schizophrénie. D'abord, nous présenterons dans un premier article une revue exhaustive de la littérature sur le système endocannabinoïde et ses implications dans la schizophrénie. Puis, dans un second article, nous exposerons des résultats de recherche clinique sur les endocannabinoïdes plasmatiques chez des patients avec toxicomanie et/ou schizophrénie. Dans la discussion, nous observerons d'abord les biais méthodologiques puis nous réviserons la littérature récente du système endocannabinoïde et ses altérations

dans la schizophrénie, la toxicomanie et le métabolisme. Nous élaborerons ensuite davantage les multiples hypothèses par rapport à nos résultats de recherche en maintenant en arrière-fond les théories qui prévalent dans la schizophrénie et présentées en introduction. Pour finir, nous pourrions étayer les hypothèses cannabinoïdes et mettre en lumière des perspectives thérapeutiques et de recherche.

2. Article 1

Pharmaceuticals **2010**, *3*, 1-x manuscripts; doi:10.3390/ph30x000x

pharmaceuticals

ISSN 1424-8247

www.mdpi.com/journal/pharmaceuticals

Review

Endocannabinoids and Schizophrenia

Joëlle Desfossés, Emmanuel Stip, Lahcen Ait Bentaleb and Stéphane Potvin

Centre de Recherche Fernand-Seguin, Department of Psychiatry, University of Montreal, 7331 Hochelaga; Montreal, Quebec, H1N 3V2, Canada;

Received: 10 September 2010 / Accepted: / Published:

Abstract: The endocannabinoids anandamide and 2-arachydonoylglycerol (2-AG) are lipids naturally derived from membrane precursors which bind cannabinoid receptors (CB₁, CB₂). This endocannabinoid system is disturbed in schizophrenia. Indeed, there seems to be an association between schizophrenia and polymorphisms of the CB₁ receptor gene. Moreover, CB₁ receptors are found in higher density in the prefrontal cortex, hippocampus and basal ganglia of patients with schizophrenia. Similarly, anandamide levels are increased in the cerebrospinal fluid (CSF) and in the serum of schizophrenia patients, including during the prodromal state, suggesting that they may play a protective role in psychosis homeostasis. Future studies are needed to further explore the role of the endocannabinoid system in the pathophysiology of schizophrenia.

Keywords: endocannabinoids; schizophrenia; cannabis; drug abuse; metabolism

1. Introduction

Schizophrenia is a complex psychiatric disorder with a lifetime prevalence of 0.4% in the general population [1–3]. Thus far, several etiological models have been proposed to explain the biological bases of the disorder, including neurodevelopmental, neurodegenerative or cortical-subcortical disconnection models. Admittedly, schizophrenia is associated with several comorbidities, encompassing the fields of addiction, endocrinology, immunology and neurology. It is of great interest to explain this aggregation of signs and symptoms from a neurobiological perspective. A disturbance of the cannabinoid system could contribute to the general understanding of the biological bases of schizophrenia and it may also be involved in its associated comorbidities. Here, we will review the literature about the endocannabinoid system, its biological roles and its interactions with neurotransmission systems, and we will subsequently evaluate its potential implication in the pathophysiology of schizophrenia and its associated comorbidities.

2. Cannabis and Schizophrenia

Patients with schizophrenia are more prone to substance abuse than the general population [4]. Among them, 25% have a lifetime prevalence of cannabis abuse/dependence, the most widely used illicit psychoactive substance [5]. Cannabis use disorder has a negative impact on response to antipsychotics, drug compliance and

psychotic relapse. In regular users, cannabis induces euphoria, perceptual illusions, tachycardia, analgesia, memory and concentration alterations, and other cognitive deficits. Cannabinoid intoxication can provoke toxic psychoses or symptoms similar to the positive symptoms of schizophrenia and even the pathognomonic schneiderian psychotic symptoms (e.g., thought intrusion/diffusion). In a randomized, double-blind, placebo-controlled study, intra-venous Δ^9 -THC (the main psychoactive agent of cannabis) administered to human healthy controls produced positive (delusions and hallucinations) and negative symptoms (blunted affect and social withdrawal), as well as cognitive effects, suggesting that it can be used as a valid model of psychosis [6]. Similarly, inhaled Δ^9 -THC has been shown to impair verbal memory, selective and sustained attention in both healthy subjects and schizophrenia patients [7]. Chronically, cannabis seems to provoke an amotivational syndrome similar to the negative symptoms of schizophrenia [8]. Therefore, cannabis can be used as a psychosis model, because its effects are more representative of the full spectrum of schizophrenia symptoms than the amphetamine sensitization model. Importantly, the psychotomimetic effects Δ -9-THC may not be solely mediated by dopamine-D₂ receptor mechanisms in humans. Indeed, healthy subjects received haloperidol before receiving intra-venous Δ^9 -THC, but haloperidol pre-treatment failed to antagonize the psychotomimetic effects of Δ^9 -THC [9]. Further studies are therefore needed to better understand the link between cannabinoids and psychosis.

Large longitudinal and cross-sectional studies have evidenced that cannabis smoking is a risk factor of psychosis [10]. In addition, cannabis smoking can exacerbate

psychosis in schizophrenia patients [11]. Prospective studies revealed that cannabis consumption seems neither a sufficient nor a necessary cause for psychosis [12]. Its influence appears more complex and it may interact with many other factors to produce psychosis. From a vulnerability-stress perspective, it has been shown that the risk of developing schizophrenia-spectrum disorders is more elevated in cannabis smokers carrying the Val-Val genotype of the catechol-*O*-methyltransferase (COMT) Val158Met gene polymorphism [13]. COMT is an enzyme degrading catecholamines (dopamine and norepinephrine) in the frontal lobe, and the val-val genotype is associated with enhanced vulnerability for psychosis.

Apart from these genetic influences, it seems that there is a dose-dependent relationship between the amount of cannabis used during adolescence and the subsequent risk of developing schizophrenia [14]. Such findings have been viewed as evidence that cannabis would be an independent risk factor for the emergence of psychosis in individuals without a psychosis background [15]. In this vein, it has been shown that a young age of commencement of substance abuse increases the risks of psychotic outcomes [16]. Consistently with the neurodevelopmental model of schizophrenia, it is also possible that exogenous cannabis smoking influences the neurodevelopmental processes thought to lead to schizophrenia [17].

These complex clinical, epidemiological and longitudinal relationships between schizophrenia and cannabis suggest that dysfunctions of the endogenous cannabinoid (ECB) system could be intrinsically involved in the pathophysiology of schizophrenia and some of its associated comorbidities.

3. Endocannabinoid System

The term cannabinoid encompasses all substances structurally related to cannabis. The ECB system includes ECB ligands, which are substances synthesized from lipid precursors in the neuronal membrane, which are part of the ethanolamine family. There are two main ECBs, *N*-arachidonoyl ethanolamide (anandamide) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and two main cannabinoid receptors, CB₁ and CB₂ [18].

3.1. Receptors

The cannabinoid system includes two major receptors: CB₁ and CB₂. Cloned in 1990 [19], CB₁ receptors are the most abundant G protein-coupled receptors in the central nervous system (CNS). In fact, they have a density 10 to 50 times greater than that of dopaminergic and opioidergic receptors. ECBs have a high affinity for CB₁ receptors, which are located in the pre-synaptic neurons. They are found mainly in the CNS in brain areas such as the globus pallidus, the hippocampus, the cerebral cortex, the hypothalamus, the cerebellum, the striatum, and the mesencephalic periaqueductal gray matter [18]. Accordingly, ECBs are involved in brain functions such as pain, emotions, cognition and motivation [20]. CB₁ receptors are also found in the periphery in reproductive, metabolic, cardiovascular and gastro-intestinal systems.

CB₂ receptors were first identified on spleen macrophages [21]. They are mostly located in the periphery, mainly in immune cells, and they can modulate immune cell migration and cytokine release in periphery and in the brain [22–25]. They are notably highly expressed on B-cells and moderately found on monocytes and

polymorphonuclear neutrophils, even though they are also found in the CNS on glial cells and brainstem and cerebellar neurons [26,27]. The evolution of knowledge about cannabinoid receptors revealed that both of them control central and peripheral functions such as cellular functions, neuronal development, neurotransmission, inflammation, cardiovascular, respiratory, reproductive and hormonal functions, energy metabolism and antinociception [23,27–33]. However, the exact role of neuronal CB₂ receptors remains incompletely established.

3.2. Ligands

Anandamide was the first discovered ECB [34]. It is considered a full agonist of CB₁ receptors [35] and a partial agonist of CB₂ receptors [36]. Anandamide has various roles in the CNS, including drug reward, memory and pain relief [18]. 2-AG is the second endogenous ligand of the cannabinoid system to be discovered [37]. It seems to have a better intrinsic efficacy on CB receptors [38] and more important effects on neurotransmission than anandamide. Indeed, 2-AG is a CB₁-selective agonist compared to anandamide, which is an agonist without CB receptor selectivity [24]. As mentioned in the article, anandamide may affect neurophysiologic processes by interacting with other targets. In this perspective, 2-AG is increasingly considered the main ECB the recent literature. Elevation of anandamide by pharmacologic inhibition of its degradation enzyme, fatty acid amid hydrolase (FAAH), does not influence CB₁ receptor activity [39]. There is also an interaction between anandamide and 2-AG. In fact, anandamide inhibits 2-AG rather than competing with CB₁ receptors [40]. This

finding raises the hypothesis that anandamide may affect neurophysiologic processes by interacting with other targets.

More recently, new ECBs have been identified, namely: *O*-arachidonylethanolamine (virodhamine), arachidonoyldopamine [41] and noladin ether [42]. Virodhamine is considered a partial agonist of CB₁ receptors and has possibly agonist-antagonist effects on these receptors [41]. As for palmithylethanolamide (PEA) and oleylethanolamide (OEA), these fatty acid ethanolamines involved in metabolism are considered endogenous ligands without bearing the cannabinoid denomination, because they have no effect on cannabinoid receptors (according to present knowledge) [43].

3.3. Other Receptors

Among other ECB targets, there are surface non-cannabinoid receptors, ion channels receptors and nuclear receptors. Recently, GPR55, a new orphan G protein-coupled receptor has been identified as a cannabinoid receptor [44,45], which favours neuronal excitability. Moreover, it has also been discovered that anandamide is an endogenous activator of the transient receptor potential, vanilloid sub-type, TRPV1 receptor [46,47]. TRPV1 is activated by inflammatory factors (such as nerve growth factors), and it is found on non-neuronal cells, as well as on dopamine neurons in the substantia nigra, on pyramidal neurons in the hippocampus, the locus coeruleus and several cortical layers. There is a specific interaction between anandamide and an intracellular site of TRPV1 [48]. The effect of anandamide on this channel can be diminished or blocked by specific antagonists of TRPV1, whereas it is not affected by antagonists of CB receptors. Noteworthy, 2-AG does not activate TRPV1 receptors. Interestingly, the action of ECBs

on dopamine transmission may be mediated via TRPV1 receptors. Anandamide and analogs (AM404, NADA) are full TRPV1 agonists, while Δ^9 -THC does not bind vanilloid receptors. This latter finding could explain why anandamide decreases striatal dopamine release, whereas Δ^9 -THC increases it [46], given that *in vitro* and *in vivo* evidence tend to demonstrate that TRPV1 receptor activators inhibit dopamine release [49].

Although they are lipophilic, cannabinoids interact with nuclear receptors, such as peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), a family divided in three sub-types α , δ (or β), γ , all expressed in the nervous system [50,51]. Anandamide activates PPAR α and γ subtypes. In addition, OEA, PEA and anandamide have a high affinity for the binding site of PPAR, which confer them anorexigenic, anti-inflammatory, neuroprotective, anti-seizure, arousing, cognitive enhancing and anti-addictive properties [52].

3.4. General Functioning of the System

ECBs have a major function of synaptic communication regulation, through activation of CB₁ receptors. ECBs are synthesized on request by neurotransmitters and are considered, like autacoids, local mediators similar to prostaglandins. Most neurotransmitters are released from pre-synaptic neurons and cause cellular depolarization or stimulate receptors in a calcium-dependent manner. ECBs are synthesized in post-synaptic neurons and released in synaptic cleft and then bind CB₁ receptors and inhibit neurotransmitter release via retrograde signalling [53,54]. ECBs are then quickly degraded by hydrolysis in the post-synaptic and pre-synaptic neurons

[55]. The integral membrane protein, FAAH, is the principle enzyme responsible for anandamide degradation in the CNS [56]. FAAH terminates this lipid signalling by hydrolyzing it to arachidonic acid and ethanolamine. For 2-AG, the main degradation enzyme in the CNS is monoacylglycerol lipase [57].

In the brain, the ECBs interact with neurotransmission systems involved in the pathophysiology of schizophrenia, such as dopamine, gamma-amino butyric acid (GABA), acetylcholine and glutamate [58]. ECBs mainly modulate neurotransmission in pre-synaptic neurons, where CB₁ receptors are located. CB₁ and D₂ receptors are highly co-expressed in the striatum, and produce opposite effects on the regulation of locomotion in mice [59]. In addition, dopamine causes transient calcium-dependent release of ECBs in ventral tegmental area and anandamide can inhibit dopamine release in the striatum, as a retrograde messenger. In contrast, exogenous cannabinoids such as Δ^9 -THC and synthetic CB₁ agonists increase dopamine synthesis in the nucleus accumbens and prefrontal cortex [60]. This mechanism may underlie the increased risk for psychosis in cannabis smokers as well as the exacerbation of psychotic symptoms by cannabis smoking in schizophrenia patients [11].

CB₁ receptors are located on glutamatergic projections to the neo-cortex, the hippocampus, the hypothalamus and the cerebellum, as well as on ascending cholinergic, serotonergic, noradrenergic subcortical pathways [61-64]. They are also located on GABAergic interneurons containing cholecystinin (CCK) [65]. CB₁ receptors inhibit GABA, glutamate, acetylcholine and norepinephrine release [20]. Additionally, CB₁ receptors play a major role on GABAergic interneurons in the

hippocampus, which are engaged in synchronisation of neuronal activity [66,67]. In general, ECBs are produced after intense neuronal activity [68] and are involved in synaptic plasticity, long-term potentiation and long-term depression, particularly in the hippocampus, where they may alter cognitive functioning and sensory gating.

3.5. Endocannabinoids and neurogenesis

ECBs influence neurodevelopmental processes, such as neuronal specification, migration and maturation, axonal elongation and synaptogenesis [69]. CB₁ receptors are more abundant in the white matter of the embryonic brain while levels increase in the grey matter from the prenatal period up to adult age. This expression is correlated with progression of neuronal differentiation [70], leading to distribution of CB₁ receptors in cortical layers I to VI under the influence of excitatory neurons vGlut-1 [71] and GABAergic interneurons containing CCK [72,73]. Theoretically, the cell fate could be disturbed by exogenous cannabinoids during adolescence or, even sooner, by a prenatal exposure, possibly leading ultimately to psychotic disturbances.

4. Endocannabinoids and Schizophrenia

Schizophrenia is a complex disorder that many theories fail to fully explain. The current literature focuses on dopaminergic dysfunctions, although other neurotransmitters are thought to be involved, including serotonin, acetylcholine and glutamate [74]. During the last decade or so, animal and human studies have both

provided converging evidence suggesting strong links between schizophrenia and cannabinoids. The ECB system plays an active role in brain regions disturbed in schizophrenia and interacts with the main neurotransmitters thought to be involved in the pathophysiology of schizophrenia. Accordingly, mounting evidence suggests that the ECB system is dysfunctional in schizophrenia.

4.1. CB1 receptors - genetics, post-mortem and in vivo studies.

CB1 receptor gene (*CNRI*) encodes the CB₁ receptor and is located on chromosome 6q14–15, which has been considered as a susceptibility locus for schizophrenia [75]. A repetition of nine AAT triplets of the polymorphism in the 3' flanking region of *CNRI* gene was associated with a susceptibility to develop the hebephrenic subtype of schizophrenia, which is characterized by prominent disorganization and negative symptoms [76]. Interestingly, the schizophrenia symptoms associated with the AAT repeat marker of the *CNRI* gene are similar to those observed in chronic cannabis-induced psychosis [77]. Additionally, a biallelic single-base polymorphism within the first exon of the *CNRI* gene, consisting of a silent mutation of 1359 G-to-A in the 453 codon (threonine) has been discovered [78]. It has been explored in patients with schizophrenia. No significant difference was observed in the allele frequency or genotype distribution between patients and controls [79]. However, there was significantly less frequent homozygote GG genotypes in non-abusing patients compared to substance-abusing schizophrenia patients, and there were no differences between the latter group and healthy controls. Thus, the current state of the literature does not suggest that the 1359G/A polymorphism would be a vulnerability factor for

schizophrenia, as it seems, rather, to influence antipsychotic response and side effects. For instance, the G allele of the 1359G/A polymorphism of the *CNR1* gene was found in excess in patients with schizophrenia refractory to atypical antipsychotics and the highest non-responsiveness was found in patients with the homozygous GG genotype [80]. Similarly, the rs806378 single nucleotide polymorphism (SNP) of the *CNR1* gene was recently associated with antipsychotic-induced weight gain in a small population of chronic schizophrenia patients [81]. Overall, the current available evidence does not indicate direct associations between *CNR1* variations and susceptibility to schizophrenia [82]. Moreover, an association was recently observed between schizophrenia and two SNPs in and near the CB₂ receptor gene (*CNR2*): rs12744386 and rs2501432. In patients with schizophrenia, there was a significant increase in the frequency of the R63 allele of rs2501432 (R63Q) polymorphism as well as the C allele of rs12744386 polymorphism. This study suggested that the susceptibility for schizophrenia is increased by a genetically predetermined lower functioning of CB₂ receptors [83].

CB₁ receptors are dense in several brain regions disturbed in schizophrenia, such as the hippocampus and the basal ganglia. Post-mortem human brain studies have shown an increase in CB₁ receptor density particularly in the dorsolateral prefrontal cortex of patients who suffered from schizophrenia in their life, without regards to cannabis smoking [84]. Among subjects who had used cannabis shortly before death, there was an increase in CB₁ receptors density in the caudate-putamen, independently of schizophrenia. Knowing the significant CB₁ receptor density in the prefrontal cortex, another post-mortem study assessed CB₁ receptor *mRNA* levels and found that they were

14% lower in the dorsolateral prefrontal cortex of schizophrenia patients, relative to healthy controls. Similarly, a post-mortem study showed an increase in CB₁ receptor density in the anterior cingulate cortex of schizophrenia patients, compared to healthy subjects [85]—a result that was not confirmed using immunohistochemistry [86]. Knowing that the functioning of the posterior cingulate cortex (PCC) may also be altered in schizophrenia [87], it is also intriguing to notice that the densities of CB₁ and CB₂ receptors are elevated in the PCC of schizophrenia patients, relative to matched controls [88]. Finally, another post-mortem study showed that the frontal CB₁ receptor density in frontal cortex was decreased among schizophrenia patients treated with antipsychotics, compared to untreated patients [89]. Assuredly, there are many confounding factors influencing the results of post-mortem studies, such as antipsychotic treatment, cannabis smoking and the heterogeneity of biochemical techniques. However, the preliminary results from these studies suggest that CB₁ receptor functioning may be altered in schizophrenia in brain regions involved in cognition [90], which is prominently impaired in schizophrenia [91].

A recent study has brought new insights about the link between schizophrenia and CB₁ receptors. With a novel positron emission tomography (PET) radioligand, [11C] OMAR (JHU75528), it was possible for the first time to examine *in vivo* CB₁ receptor binding. In this PET study, there was an elevation of CB₁ binding in patients with schizophrenia across many brain regions, relative to healthy controls [90]. However, the only significant binding elevation was reported in the pons.

In animal models of schizophrenia such as social or maternal deprivation, significant changes in ECB signalling have been reported, including a significant decrease in CB₁ receptor expression in the caudate putamen and the amygdala and a significant increase in FAAH expression in the caudate putamen and the nucleus accumbens [92]. There was no significant change in D₂ receptor expression in any region studied in this experimental investigation, indicating that the ECB system is altered in animal models of psychosis. Noteworthy, another preclinical study examined ECB levels and CB₁ receptor binding in a pharmacological model of schizophrenia-like cognitive deficits (e.g., withdrawal from subchronic administration of phencyclidine –PCP– in rats). PCP-treated rats showed increased ECB levels in the nucleus accumbens and ventral tegmental area, whereas CB₁ receptor expression was unaltered. This study suggested also an interesting element: FAAH inhibition or CB₁ receptor blockade may improve negative symptoms in PCP-treated rats but produce deleterious effects in untreated animals, possibly by disturbing ECB tone [93]. Moreover, another study using the same pharmacological model showed that in the prefrontal cortex of PCP-treated rats, there was a significant reduction in CB₁ receptor binding and an increase in 2-AG levels, suggesting that prefrontal dysfunctions of ECB system could contribute to the glutamatergic-related cognitive deficits in schizophrenia [94].

Moreover, in genetic studies on knock-out mice for CB₁ and CB₂ receptors genes, psychotic-like behavioural changes were observed. CB₁ receptor knock-out mice exhibited behavioural alterations reminiscent of schizophrenia, of cannabinoid intoxication and of dopamine-related behaviours. In animal studies, ECBs have also

been shown to play a protective role against psychotic-like behavioural disturbances, especially stereotypies. Indeed, it was shown that the motor responses produced by amphetamines and by quinpirole (a D₂ receptor agonist) are enhanced after desensitization of the cannabinoid CB₁ receptor [95,96], suggesting that ECB downregulation can lead to sensitized psychotic-like states.

4.2. Endogenous ligands

There is accumulating evidence of anandamidergic dysfunction in schizophrenia. Actually, CSF anandamide levels are significantly elevated in schizophrenia patients, compared to healthy controls and individuals with other psychiatric disorders such as depression, bipolar disorder, as well as Alzheimer's disease and vascular dementia [97,98]. This elevation in anandamide levels is not only observed in the CSF, but also in the plasma. Among patients in the acute phase of schizophrenia, plasmatic anandamide levels were found to be significantly elevated, relative to healthy controls [99]. In this study, the *mRNA* plasmatic levels of the anandamide degradation enzyme, FAAH, were also elevated. Based on these findings, it has been hypothesized that an underlying compensatory mechanism elevates FAAH levels to normalize circulating anandamide levels. Similarly, plasmatic anandamide was found to be elevated in dual diagnosis patients with schizophrenia and substance abuse [100]. However, 2-AG levels were not elevated in these dual diagnosis patients, compared to controls, although this result possibly reflected a type-II error due to the size of the sample involved.

4.3. Symptomatology

Given increasing evidence implicating the ECB system in the pathophysiology of schizophrenia, it becomes necessary to explore in more details the correlation between ECBs and the symptoms of schizophrenia. Psychotic symptoms arise when there is abnormal dopaminergic discharge in the mesolimbic system [74]. Functional interactions between cannabinoids and dopaminergic transmission have been suggested for many years [101]. For instance, dopamine-D₂ receptor overactivity is associated with an increase of anandamide release in rodents [101]. In humans, a negative correlation has been found between CSF anandamide levels and the positive symptoms of schizophrenia [102]. As such, these results suggest that anandamide may normalize, in a compensatory fashion, the neurochemical disturbances associated with the acute phase of psychosis. In that perspective, the acute phase of psychosis would represent a failure of anandamidergic compensatory mechanisms. Noteworthy, recent data shows that this protective mechanism seems to be active before the apparition of acute psychotic symptoms. In fact, CSF anandamide has been shown to be elevated (not significantly) during the prodromal period of schizophrenia [102]. More precisely, that study showed that lower anandamide levels were associated with earlier transition time to acute psychosis [102]. In rodents, an acute CB₁ receptor blockade with a selective antagonist potentiates stereotypy induced by D₁ and D₂ receptor agonists, suggesting that ECBs play inhibitory functions in the presence of dopaminergic overactivity [103]. Therefore, in the acute phase of the disorder, ECBs may counteract hyperdopaminergic disturbances. This observation contrasts with the fact that *exogenous* cannabinoids

precipitate psychosis. This discrepancy could be explained by the pleiotropic effects of the ECBs, which depend on tissue type and on the stage of the disorder (acute or chronic), changing the functional outcomes of ECBs [104]. Also noteworthy, ECBs interact with receptors different than Δ^9 -THC targets. At high dosage, ECBs interact with PPARs, leading to variable effects. In addition, Δ^9 -THC does not bind vanilloid receptors, contrarily to ECBs. As mentioned earlier, this latter finding could explain why anandamide decreases striatal dopamine release, whereas Δ^9 -THC increases it [46].

Additionally, the first PET study measuring CB₁ receptor binding *in vivo* in schizophrenia highlighted an association between elevated CB₁ binding in specific brain regions and the symptoms of schizophrenia [90]. More precisely, the highest elevated CB₁ binding was correlated with the highest psychosis to withdrawal scores ratio in the frontal lobe and middle and posterior cingulate cortices. The preliminary results of this study suggest that there may be complex interactions between the positive and negative symptoms of schizophrenia and CB₁ receptor functioning [90].

4.4 Endocannabinoids and the neurodevelopmental model of schizophrenia

From a physiologic perspective, ECBs have an essential role in neurogenesis, as previously mentioned. This knowledge raises the question of the potential role of ECBs in the neurodevelopmental model of schizophrenia. Although preliminary, emerging data are consistent with this view. For instance, neuregulin 1 and Erb4 receptor genes are involved in neurogenesis and are influencing the vulnerability to develop schizophrenia [105]. Interestingly, it has been shown that mice with hypomorphic neuregulin are more sensitive to the psychotic-like effects of Δ^9 -THC and that they display enhanced Δ^9 -

THC-induced c-Fos expression [106,107]. Although this view is purely theoretical at the moment, it is also possible that ECBs play a role in the neurodegenerative model of schizophrenia. ECBs regulate neurotransmission and serve as a balance between excitatory and inhibitory neurotransmission, and a disturbance in the ECB system could possibly produce glutamatergic-mediated neurotoxic effects [58].

4.5. Antipsychotic perspectives

Cannabis-induced psychosis and schizophrenia have a good response to antipsychotic treatment. Considering the cannabinoid hypothesis of psychosis, we can suppose that the ECB system is not only involved in psychosis but also in the effects of antipsychotics. In human studies, clinical remission is accompanied by a significant reduction of anandamide levels following olanzapine treatment and also by reductions of CB₂ *mRNA* and FAAH *mRNA* levels [99]. However, it must be considered that this trial included a small sample of patients. In a cross-sectional study, it was shown that schizophrenia patients treated with typical antipsychotics (D₂ antagonists) had similar CSF anandamide levels, relative to healthy controls [98]. This result was interpreted as being consistent with preclinical data showing that D₂ antagonism decreases ECB excess, while D₂ agonism induces anandamide synthesis in limbic and motor areas. In contrast, schizophrenia patients treated with atypical antipsychotics (D₂ and 5-HT₂ antagonists) had elevated anandamide levels, as did drug-free schizophrenia patients. Thus, there was no normalisation of anandamide levels with atypical antipsychotics.

Clozapine is an atypical antipsychotic potentially efficacious for the treatment of substance abuse, especially cannabis smoking, in schizophrenia patients [108]. In rats,

clozapine influenced the binding of a selective CB₁ agonist (CP,55940) in the nucleus accumbens after one and three months of treatment, a result that was not observed with other antipsychotics [109]. This effect was selective to the nucleus accumbens, a region thought to be dysfunctional in both substance abuse and psychosis, while no effect was observed in the hippocampus, the striatum and the frontal cortex. This result was not replicated in humans but comforts the idea that clozapine may be advantageous in dual diagnosis patients. The mechanisms underlying the effects of clozapine on CB₁ receptors remain unknown. Given the interactions between CB₁ and muscarinic receptors [110], it has been proposed clozapine could modify CB₁ receptor binding via its effects on muscarinic receptors. Apart from these effects of clozapine, some typical antipsychotics (e.g., haloperidol and sulpiride) have been shown to enhance CB₁ receptor *mRNA* levels in the striatum after one month of treatment [111].

Quetiapine is an atypical antipsychotic that shares several pharmacologic properties with clozapine, such as fast dissociation from D₂ receptors, a similar affinity ratio for 5-HT_{2A} and D₂ receptors, and a partial agonism at 5HT_{1A} receptors [112]. Thus, quetiapine and clozapine could have similar effects on CB₁ receptors, since quetiapine has also demonstrated therapeutic benefits in dual diagnosis patients. However, in an open-label trial from our group, quetiapine did not affect plasma levels of anandamide and 2-AG in dual diagnosis patients following 12-week treatment [100]. However, substance abuse was a major confounding factor in that study.

Other pre-clinical studies with atypical antipsychotics found that risperidone increases CB₁ binding in the rat caudate nucleus, hippocampus, and amygdala [113].

Moreover, olanzapine significantly decreases CB₁ binding in the dorsal vagal complex of the brainstem in *ex vivo* experiments in rats while aripiprazole and haloperidol have little affinity for CB₁ receptors [114]. However, both *in vitro* and *in vivo*, there is evidence that antipsychotics such as clozapine, olanzapine, haloperidol have no affinity for CB₁ receptor [115]. Overall, even though antipsychotics may decrease CB₁ radiotracer binding in the brainstem and amygdala by an unknown exact mechanism, the current evidence tends to suggest that antipsychotic drugs do not bind CB₁ receptors *in vitro* and do not change the CB₁ radiotracer binding in the cortex and striatum, where CB₁ receptors have the highest density.

Rimonabant (SR141716), a selective CB₁ receptor antagonist, produces in rats changes in Fos protein expression and neurotensin in mesocorticolimbic areas that are similar to those produced by atypical antipsychotics. Animal experiments also showed that rimonabant was able to reduce hyperactivity induced by psychostimulants, which can produce psychotic symptoms in humans [116]. Otherwise, a more recent pre-clinical study examined the effects of rimonabant (SR141716A) on prepulse inhibition (PPI) (e.g., the inhibition of a response to a strong startling stimulus by a weaker prestimulus), which is impaired in schizophrenia [117]. In rats, rimobanant administration counteracted PPI produced by the glutamatergic *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonists, PCP and dizocilpine, and by the D₂ agonist apomorphine, whereas SR141716 did not alter PPI when administered alone. Given that clozapine produced similar results on the PPI-disruptive effects of phencyclidine, dizocilpine and

apomorphine, the authors interpreted their results as evidence of an atypical antipsychotic profile of rimonabant [118].

In humans, there is growing interest in the potential applications of the ECB system for the development of novel antipsychotic drugs. In that perspective, a functional magnetic resonance imaging study showed that 7-day administration of rimonabant (CB₁ antagonist) to healthy participants reduced their subjective experience of reward (anhedonia) and their neural responses in key brain reward regions (e.g., ventral striatum) [119]. However, in a randomized placebo-controlled study involving adults with schizophrenia or schizoaffective disorder, rimonabant did not improve psychotic symptoms conclusively [120]. The second most abundant exogenous cannabinoid, cannabidiol (CBD), has anticonvulsant, antianxiety, antiinflammatory, neuroprotective and antiemetic properties as suggested by preclinical evidence [121,122]. However, it has no psychoactive properties. It is a weak partial antagonist at the CB₁ receptor [123] but possibly acts also on new cannabinoid receptors [124,125], such as receptor GPR55 [126]. The effects of CBD could also be due to its inhibition of anandamide reuptake and enzymatic hydrolysis [121]. Favourably, Leweke and colleagues compared the antipsychotic activity of CBD with amisulpride in patients with acute schizophrenia, in a 4-week, double-blind controlled trial, presented in 2005 [118]. It revealed significant reductions of acute psychotic symptoms after 2 and 4 weeks of treatment with CBD (800 mg/day) that did not differ from amisulpride (800 mg/day) except for a lower incidence of side effects.

In the end, ECBs' actions depend on the functional balance between GABAergic and glutamatergic inputs that are both inhibited by ECBs under physiological conditions [104]. Interestingly, ECBs seem to produce effects that are dose-dependent and state-dependent [127]. Because of similarity of ECBs' effects with the effects of partial agonists, it remains a challenge to predict the potential therapeutic utility of medications acting on this system.

5. Schizophrenia and its Associated Comorbidities

The ECB system represents a physiologic system allowing the organism to reach homeostasis, and as such, it could be involved in biological functions such as appetite regulation, food intake, metabolic regulation, weight gain, learning/memory, pain avoidance and reward seeking. Knowing that schizophrenia is associated with metabolic disorders and increased vulnerability to alcohol and drug addiction, the ECB system seems to be implicated in these comorbidities. Consistent with this view, it is of interest that many of the *CNR1* gene polymorphisms associated with schizophrenia have also been linked to metabolic disorders and substance abuse/dependence [128].

5.1. Endocannabinoids and metabolic control

Weight gain is influenced by various biological factors. Central mechanisms, such as food reward, have been shown to influence weight gain. The endocrinal system is also a critical player, as it is involved in both central and peripheral control of metabolism. Weight gain is also significantly influenced by peripheral mechanisms, such as metabolism and energy homeostasis. Interestingly, mounting pre-clinical evidence

shows that the ECB system influences weight gain by acting at these various levels and plays a critical role in metabolic control and energy homeostasis [129].

At the CNS level, food reward has been shown to depend on CB₁ receptors [130], given that CB₁ antagonists block or diminish food reward. ECBs, more precisely anandamide, also influence food intake and weight gain by central actions on hypothalamic mediators. Indeed, the ECB system interacts with key hormones in the CNS and the periphery that are known to influence food intake and weight gain. For instance, ECBs are tonic inhibitors of neuropeptides such as CCK and corticotrophin releasing hormone (CRH), most probably via co-localization of CCK and CRH receptors with CB₁ receptors [131,132]. CCK is a peptide produced by the pancreas and a neurohumoral agonist acting to enhance insulin secretion. It was also proven that ECBs have orexigenic effects, which mean that they are high when fasting and low while eating, and these effects could be related to ECBs' interactions with leptin and ghrelin. Interestingly, it has been shown in rodents that leptin, a peptide hormone produced by fat cells and involved in weight control and metabolism, decreases ECBs levels in the hypothalamus [130]. Complementarily, a tonic elevation of ECBs has been linked in rodents with an increase in plasmatic ghrelin, a peptide hormone regulating appetite, suggesting that the orexigenic effects of ECBs could be ghrelin-dependent. Finally, it must be mentioned that ECBs influence weight gain via peripheral metabolic mechanisms. There is indeed evidence showing that anandamide regulates adipocyte differentiation [133] and that adipose cells generate ECBs, express CB₁ receptors and respond to CB₁-induced lipogenesis [134] and fatty acid synthesis [135]. Although

preliminary, the results of human studies are generally consistent with these pre-clinical findings. For instance, pharmacological trials have shown thatrimonabant—a CB₁ antagonist—is efficient for the treatment of obesity [136]. Preliminary genetic association studies also suggest an involvement of the ECB system in obesity and/or metabolic disorders [137]. Overall, current evidence suggests that a hyperactivity of the ECB system could contribute to obesity development and probably to the metabolic syndrome, but further confirmation of this assumption is required in humans.

The metabolic syndrome is widely prevalent in individuals with schizophrenia, who are more prone to develop diabetes, obesity and dyslipemia than the general population. Schizophrenia patients have 20% shorter life expectancy than that of the general population [138]. Metabolic disorders contribute significantly to this epidemiological burden of schizophrenia, and are associated with poor quality of life and antipsychotic non-compliance [139,140]. Atypical antipsychotics have been demonstrated to exacerbate this problem. However, evidence is cumulating to demonstrate that the schizophrenia diagnosis increases the risk for metabolic disorders independently of environmental exposure such as inactivity, smoking and dietary habits, even when pharmacological treatment and lifestyle are considered as covariates [141].

Based on these findings, we hypothesized that the ECB system could be involved in the predisposition of schizophrenia patients to develop metabolic disorders. Indeed, central and peripheral ECB disturbances have been demonstrated in patients with schizophrenia. In addition, some of the endocrinal factors contributing to weight gain in schizophrenia are known to be influenced by the ECB system. Schizophrenia patients

seem to have higher fasting cortisol and fasting insulin and lower insulin-like growth factor-1, relative to controls [142]. There is also impaired glucose tolerance in first-episode drug-naïve patients with schizophrenia [143]. However, no significant differences are observed on any lipid measure, leptin, HbA1C or fasting glucose between schizophrenia patients and controls [141]. Knowing the interaction between CCK and insulin and the obvious role of insulin in glucose metabolism, the study of the ECB system could reveal an explanation for weight gain in schizophrenia and its underlying physiopathology which remains unknown.

From a therapeutic perspective, agents acting on the ECB system have been proposed for the treatment of both patients with schizophrenia and patients with metabolic disorders. Interestingly, while CB₁ receptor antagonists, such as rimonabant, are known for their antipsychotic and anti-obesity effects, they seem also to activate PPAR- γ , suggesting that their effects may not be mediated via CB₁ receptors [144] but rather by a receptor involved in metabolism. Even more relevant, among anti-diabetic agents currently used, there is thiazolidinedione pioglitazone, which acts on the nuclear transcription factor PPAR γ , increasing insulin sensitivity and causing a significant reduction in free fatty acid levels [145]. This leaves open the possibility to combine treatment for patients with schizophrenia suffering from metabolic problems but it allows the study of the schizophrenia-weight gain from a physiopathological perspective. Moreover, PPAR ligands (PEA and OEA) have been explored in patients with schizophrenia. OEA is an anorexic lipid that produces satiety and reduces weight gain in rodents [146]. Plasmatic OEA was increased in patients relative to controls, even

though patients in this sample did not significantly differ in weight compared with controls [100]. This paradoxical result may be influenced by substance abuse and further studies are needed.

Overall, futures studies on the ECB system in schizophrenia might produce new insights about the complex biological relationships between schizophrenia and metabolic disorders, which are highly prevalent in the disorder and a source of significant burden.

5.2 Endocannabinoids and drug reward

Mounting evidence suggests that the ECB system plays a critical role in the brain reward system [147]. CB₁ receptors are present in ventral tegmental area and the nucleus accumbens, the key brain reward regions, as well as in the prefrontal cortex, the amygdala and hippocampus, which are interconnected with the brain reward circuitry [148]. A common neurobiological mechanism underlying drug abuse involves ECB release in the ventral tegmental area, causing a rewarding effect and increasing the motivation to seek drugs. The primary rewarding effects of cannabinoids, opioids, nicotine and alcohol increase dopaminergic firing rates and depend on ECB release in the ventral tegmental area [149]. In contrast, psychostimulants enhance dopamine in nucleus accumbens directly on axon terminals, without necessitating the activation of CB₁ receptors [58]. Thus, the rewarding effects of alcohol, cannabinoids, nicotine and alcohol may be dependent on the ECB system, but not those of psychostimulants. This role in plasticity is important for learning processes related to addictive behaviour, and it seems to be dopamine-independent. Consistent with these preclinical findings,

preliminary results from human studies have shown an association between homozygous form of FAAH gene 385C/A polymorphism and alcohol/drug abuse in a Caucasian population [150]. Similarly, associations have been described between alcohol and drug abuse/dependence and various polymorphisms of the *CNR1* gene [151-154]. Genomic variants at the CB₁/*Cnr1* locus are candidates for human vulnerability to substance use disorders. A genomic study of human CB₁/*Cnr1* found four exons that may thus represent CB₁/*Cnr1* genomic structure expressed in regions that include hippocampus, cerebellum, amygdala, caudate putamen and substantia nigra [155]. This study has begun to elucidate candidate promoter regions for the CB₁/*Cnr1* gene and also variants in genomic sequences, such as pattern of CB₁/*Cnr1* transcriptional start and splice variants that might confer CB₁/*Cnr1* regulation. Furthermore, there seems to be haplotypes toward the 5' end of the CB₁/*Cnr1* gene's exons and introns distinguishing substance abusers from control individuals. Addiction-associated TAG haplotype is associated with significantly reduced expression of CB₁/*Cnr1* exon 3 mRNA in human brain. Lastly, allelic differences in CB₁/*Cnr1* expression and regulation are good candidates to play roles in producing differences in addiction vulnerabilities. In view of these results, therapeutic alternatives involving ECBs are growingly considered for drug abuse treatment. For example, CB₁ receptor activation or deactivation have been proposed, but there remains many concerns about potential adverse emotional reactions [156].

The key feature of (nearly) all addictive drugs is their ability to increase synaptic dopamine levels in the striatum. Regarding Δ^9 -THC, its exact effects on brain reward are still controversial. CB₁ receptor mediates cannabis effects in the CNS [156,157]. While

binding CB₁ receptors, Δ^9 -THC acts as a functional antagonist interacting with ECBs, anandamide and 2-AG, which usually inhibit neurotransmission. More precisely, Δ^9 -THC seems to be a CB₁ receptor partial agonist, acting as an antagonist in presence of high efficacy ECBs, like 2-AG, and as an agonist in presence of low efficacy ECBs, like anandamide [158]. In seven healthy subjects, it was recently shown, using PET, that Δ^9 -THC induces dopamine release in the ventral striatum and the pre-commissural dorsal putamen, but not in other striatal sub-regions [159]. Interestingly, a recent PET study showed that the dopaminergic hyperactivity underlying the psychotic symptoms of schizophrenia is more prominent in the associative regions of the striatum, such as the pre-commissural dorsal caudate region [160]. However, it must be mentioned that some results challenge the notion that striatal dopaminergic hyperactivity underlies the association between cannabis smoking and psychotic outcomes. Indeed, a PET study involving thirteen healthy recreational cannabis users failed to show that 10 mg of Δ^9 -THC releases significant amounts of striatal dopamine, compared to placebo [161].

Substance use disorders are highly prevalent in schizophrenia and are associated with significant psychiatric and functional impairments [162]. Given the importance of this comorbid disorder, Leweke et al. (2007) examined the influence of cannabis smoking on the CSF anandamide levels of schizophrenia patients [163]. Individuals with schizophrenia and low cannabis consumption had CSF anandamide levels ten times higher than schizophrenia individuals consuming more cannabis or healthy controls (with or without cannabis consumption). There was no difference in plasmatic anandamide levels between the four sub-groups. Moreover, CSF anandamide levels

were inversely correlated with positive symptoms, regardless of consumption. These results suggest that among individuals with schizophrenia, frequent exposure to cannabis reduces anandamide signalling in the CNS (via reduced synthesis or accelerated degradation), a phenomenon not observed in healthy subjects. Given the key role of ECBs in the brain reward system, preliminary evidence suggests that ECBs contribute to the propensity of schizophrenia patients to abuse psychoactive substances, especially cannabis and alcohol. Noticeably, our group recently showed that baseline plasma anandamide levels predict substance consumption (alcohol and cannabis) after twelve weeks of atypical antipsychotic treatment, quetiapine, in patients with schizophrenia and comorbid substance abuse [100].

Interestingly, electrophysiology studies in rats have shown that ECB elevation via FAAH inhibition suppresses nicotine-induced activation of ventral tegmental area dopamine neurons via PPAR- α [164]. In other words, anandamide inhibits mesolimbic dopamine in drug reward via PPAR. However, intracerebral anandamide analog infusion did not produce this effect, suggesting that PEA or OEA may play a role in drug reward. Consistent with this view, our group showed an elevation of plasma OEA levels in patients with schizophrenia and substance use disorders, relative to healthy controls [100]. Furthermore, ECBs facilitate effects of orexin-releasing neurons in hypothalamus, which also project to the nucleus accumbens and ventral tegmental area. Hypothalamus orexins are involved in the rewarding effects of psychoactive substances [58]. Interestingly, drug craving is quite similar with food craving observed in patients with

bulimia or obesity problems. In the future, it will be of interest to examine the potential roles of the ECB system in food or drug craving in schizophrenia.

6. Conclusions

The ECB system is involved in several neuromodulation processes. Pre-clinical studies strongly suggest that ECBs play a role in neurogenesis, neurodegenerative processes, as well as in the neural circuits thought to be impaired in schizophrenia. In humans, mounting evidence shows that CB₁ receptor densities are altered in schizophrenia and that anandamide levels are elevated, suggesting that the ECBs are involved in the pathophysiology of the disorder. Given the key roles of ECBs in drug reward and metabolic regulation, it can be hypothesized that ECBs may be involved in some worrying comorbidities associated with schizophrenia, such as metabolic disorders and substance abuse/dependence. Novel pharmacologic perspectives for the treatment of schizophrenia are increasingly emphasizing the potential applications of the ECB system, which will need to be tested in well-controlled trials. Further studies controlling for substance abuse are needed to better understand the roles of the ECB system in schizophrenia.

Acknowledgements

JD is holder of a Frederick Banting and Charles Best Canada Graduate Scholarships-Master's Award, from the *Canadian Institutes of Health Research*. SP is holder of a Junior 1 researcher scholarship from the Fonds de Recherche en Santé du Québec and holder of a catalyst grant from the *Canadian Institutes of Health Research*. ES is holder of the Eli Lilly Chair of Schizophrenia from University of Montreal. The authors would like to thank Simon Zhornitsky for language editing of the manuscript.

References

1. Bhugra, D. The global prevalence of schizophrenia. *PLoS Med.* **2005**, *2*, e151; quiz e175.
2. Saha, S.; Chant, D.; Welham, J.; McGrath, J. A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Med.* **2005**, *2*, e141.
3. McGrath, J.; Saha, S.; Chant, D.; Welham, J. Schizophrenia: A concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol. Rev.* **2008**, *30*, 67-76.
4. Regier, D.A.; Farmer, M.E.; Rae, D.S.; Locke, B.Z.; Keith, S.J.; Judd, L.L.; Goodwin, F.K. Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse. Results from the epidemiologic catchment area (eca) study. *JAMA* **1990**, *264*, 2511-2518.
5. Jablensky, A. Epidemiology of schizophrenia: The global burden of disease and disability. *Eur Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* **2000**, *250*, 274-285.
6. D'Souza, D.C.; Perry, E.; MacDougall, L.; Ammerman, Y.; Cooper, T.; Wu, Y.T.; Braley, G.; Gueorguieva, R.; Krystal, J.H. The psychotomimetic effects of

- intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: Implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology* **2004**, *29*, 1558-1572.
7. Henquet, C.; Rosa, A.; Krabbendam, L.; Papiol, S.; Fananas, L.; Drukker, M.; Ramaekers, J.G.; van Os, J. An experimental study of catechol-o-methyltransferase val158met moderation of delta-9-tetrahydrocannabinol-induced effects on psychosis and cognition. *Neuropsychopharmacology* **2006**, *31*, 2748-2757.
 8. Nunez, L.A.; Gurpegui, M. Cannabis-induced psychosis: A cross-sectional comparison with acute schizophrenia. *Acta Psychiatr. Scand.* **2002**, *105*, 173-178.
 9. D'Souza, D.C.; Braley, G.; Blaise, R.; Vendetti, M.; Oliver, S.; Pittman, B.; Ranganathan, M.; Bhakta, S.; Zimolo, Z.; Cooper, T.; Perry, E. Effects of haloperidol on the behavioral, subjective, cognitive, motor, and neuroendocrine effects of delta-9-tetrahydrocannabinol in humans. *Psychopharmacology (Berl)* **2008**, *198*, 587-603.
 10. Moore, T.H.; Zammit, S.; Lingford-Hughes, A.; Barnes, T.R.; Jones, P.B.; Burke, M.; Lewis, G. Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: A systematic review. *Lancet* **2007**, *370*, 319-328.
 11. D'Souza, D.C.; Abi-Saab, W.M.; Madonick, S.; Forselius-Bielen, K.; Doersch, A.; Braley, G.; Gueorguieva, R.; Cooper, T.B.; Krystal, J.H. Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: Implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol. Psychiatry* **2005**, *57*, 594-608.

12. Arseneault, L.; Cannon, M.; Witton, J.; Murray, R.M. Causal association between cannabis and psychosis: Examination of the evidence. *Br. J. Psychiatry* **2004**, *184*, 110-117.
13. Caspi, A.; Moffitt, T.E.; Cannon, M.; McClay, J.; Murray, R.; Harrington, H.; Taylor, A.; Arseneault, L.; Williams, B.; Braithwaite, A.; Poulton, R.; Craig, I.W. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-o-methyltransferase gene: Longitudinal evidence of a gene x environment interaction. *Biol. Psychiatry* **2005**, *57*, 1117-1127.
14. Andreasson, S.; Allebeck, P.; Engstrom, A.; Rydberg, U. Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of swedish conscripts. *Lancet* **1987**, *2*, 1483-1486.
15. van Os, J.; Bak, M.; Hanssen, M.; Bijl, R.V.; de Graaf, R.; Verdoux, H. Cannabis use and psychosis: A longitudinal population-based study. *Am. J. Epidemiol* **2002**, *156*, 319-327.
16. Arseneault, L.; Cannon, M.; Poulton, R.; Murray, R.; Caspi, A.; Moffitt, T.E. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: Longitudinal prospective study. *BMJ* **2002**, *325*, 1212-1213.
17. Pistis, M.; Perra, S.; Pillolla, G.; Melis, M.; Muntoni, A.L.; Gessa, G.L. Adolescent exposure to cannabinoids induces long-lasting changes in the response to drugs of abuse of rat midbrain dopamine neurons. *Biol. Psychiatry* **2004**, *56*, 86-94.

18. Ameri, A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog. Neurobiol.* **1999**, *58*, 315-348.
19. Matsuda, L.A.; Lolait, S.J.; Brownstein, M.J.; Young, A.C.; Bonner, T.I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* **1990**, *346*, 561-564.
20. Piomelli, D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat. Rev. Neurosci.* **2003**, *4*, 873-884.
21. Munro, S.; Thomas, K.L.; Abu-Shaar, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* **1993**, *365*, 61-65.
22. Cabral, G.A.; Staab, A. Effects on the immune system. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2005**, 385-423.
23. Pertwee, R.G. Pharmacological actions of cannabinoids. *Handb. Exp. Pharmacol.* **2005**, 1-51.
24. Pertwee, R.G. Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: From the to anandamide and beyond. *Addict. Biol.* **2008**, *13*, 147-159.
25. Gong, J.P.; Onaivi, E.S.; Ishiguro, H.; Liu, Q.R.; Tagliaferro, P.A.; Brusco, A.; Uhl, G.R. Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res.* **2006**, *1071*, 10-23.
26. Van Sickle, M.D.; Duncan, M.; Kingsley, P.J.; Mouihate, A.; Urbani, P.; Mackie, K.; Stella, N.; Makriyannis, A.; Piomelli, D.; Davison, J.S.; Marnett, L.J.; Di Marzo, V.; Pittman, Q.J.; Patel, K.D.; Sharkey, K.A. Identification and functional

- characterization of brainstem cannabinoid cb2 receptors. *Science* **2005**, *310*, 329-332.
27. Beltramo, M.; Bernardini, N.; Bertorelli, R.; Campanella, M.; Nicolussi, E.; Fredduzzi, S.; Reggiani, A. Cb2 receptor-mediated antihyperalgesia: Possible direct involvement of neural mechanisms. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *23*, 1530-1538.
 28. Onaivi, E.S.; Ishiguro, H.; Gong, J.P.; Patel, S.; Perchuk, A.; Meozzi, P.A.; Myers, L.; Mora, Z.; Tagliaferro, P.; Gardner, E.; Brusco, A.; Akinshola, B.E.; Liu, Q.R.; Hope, B.; Iwasaki, S.; Arinami, T.; Teasenfitz, L.; Uhl, G.R. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid cb2 receptors in brain. *Ann. N Y Acad. Sci.* **2006**, *1074*, 514-536.
 29. Ashton, J.C.; Wright, J.L.; McPartland, J.M.; Tyndall, J.D. Cannabinoid cb1 and cb2 receptor ligand specificity and the development of cb2-selective agonists. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15*, 1428-1443.
 30. Ashton, J.C.; Glass, M. The cannabinoid cb2 receptor as a target for inflammation-dependent neurodegeneration. *Curr. Neuropharmacol.* **2007**, *5*, 73-80.
 31. Di Marzo, V. The endocannabinoid system: Its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacol. Res.* **2009**, *60*, 77-84.
 32. Ross, R.A.; Coutts, A.A.; McFarlane, S.M.; Anavi-Goffer, S.; Irving, A.J.; Pertwee, R.G.; MacEwan, D.J.; Scott, R.H. Actions of cannabinoid receptor ligands on rat cultured sensory neurones: Implications for antinociception. *Neuropharmacology* **2001**, *40*, 221-232.

33. Wotherspoon, G.; Fox, A.; McIntyre, P.; Colley, S.; Bevan, S.; Winter, J. Peripheral nerve injury induces cannabinoid receptor 2 protein expression in rat sensory neurons. *Neuroscience* **2005**, *135*, 235-245.
34. Devane, W.A.; Hanus, L.; Breuer, A.; Pertwee, R.G.; Stevenson, L.A.; Griffin, G.; Gibson, D.; Mandelbaum, A.; Etinger, A.; Mechoulam, R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* **1992**, *258*, 1946-1949.
35. Pertwee, R.G. Pharmacology of cannabinoid cb1 and cb2 receptors. *Pharmacol. Ther.* **1997**, *74*, 129-180.
36. Gonsiorek, W.; Lunn, C.; Fan, X.; Narula, S.; Lundell, D.; Hipkin, R.W. Endocannabinoid 2-arachidonyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: Antagonism by anandamide. *Mol. Pharmacol.* **2000**, *57*, 1045-1050.
37. Mechoulam, R.; Ben-Shabat, S.; Hanus, L.; Ligumsky, M.; Kaminski, N.E.; Schatz, A.R.; Gopher, A.; Almog, S.; Martin, B.R.; Compton, D.R.; et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *50*, 83-90.
38. Melis, M.; Perra, S.; Muntoni, A.L.; Pillolla, G.; Lutz, B.; Marsicano, G.; Di Marzo, V.; Gessa, G.L.; Pistis, M. Prefrontal cortex stimulation induces 2-arachidonoyl-glycerol-mediated suppression of excitation in dopamine neurons. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 10707-10715.

39. Palomaki, V.A.; Lehtonen, M.; Savinainen, J.R.; Laitinen, J.T. Visualization of 2-arachidonoylglycerol accumulation and cannabinoid cb1 receptor activity in rat brain cryosections by functional autoradiography. *J. Neurochem.* **2007**, *101*, 972-981.
40. Maccarrone, M.; Rossi, S.; Bari, M.; De Chiara, V.; Fezza, F.; Musella, A.; Gasperi, V.; Prosperetti, C.; Bernardi, G.; Finazzi-Agro, A.; Cravatt, B.F.; Centonze, D. Anandamide inhibits metabolism and physiological actions of 2-arachidonoylglycerol in the striatum. *Nat. Neurosci.* **2008**, *11*, 152-159.
41. Porter, A.C.; Sauer, J.M.; Knierman, M.D.; Becker, G.W.; Bernal, M.J.; Bao, J.; Nomikos, G.G.; Carter, P.; Bymaster, F.P.; Leese, A.B.; Felder, C.C. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the cb1 receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *301*, 1020-1024.
42. Hanus, L.; Abu-Lafi, S.; Fride, E.; Breuer, A.; Vogel, Z.; Shalev, D.E.; Kustanovich, I.; Mechoulam, R. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid cb1 receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2001**, *98*, 3662-3665.
43. Matias, I.; Gonthier, M.P.; Petrosino, S.; Docimo, L.; Capasso, R.; Hoareau, L.; Monteleone, P.; Roche, R.; Izzo, A.A.; Di Marzo, V. Role and regulation of acylethanolamides in energy balance: Focus on adipocytes and beta-cells. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152*, 676-690.
44. Ross, R.A. The enigmatic pharmacology of gpr55. *Trends Pharmacol. Sci.* **2009**, *30*, 156-163.

45. Lauckner, J.E.; Jensen, J.B.; Chen, H.Y.; Lu, H.C.; Hille, B.; Mackie, K. Gpr55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits m current. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2008**, *105*, 2699-2704.
46. Starowicz, K.; Nigam, S.; Di Marzo, V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol. Ther.* **2007**, *114*, 13-33.
47. Starowicz, K.; Cristino, L.; Di Marzo, V. Trpv1 receptors in the central nervous system: Potential for previously unforeseen therapeutic applications. *Curr. Pharm. Des.* **2008**, *14*, 42-54.
48. De Petrocellis, L.; Bisogno, T.; Maccarrone, M.; Davis, J.B.; Finazzi-Agro, A.; Di Marzo, V. The activity of anandamide at vanilloid vr1 receptors requires facilitated transport across the cell membrane and is limited by intracellular metabolism. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 12856-12863.
49. de Lago, E.; de Miguel, R.; Lastres-Becker, I.; Ramos, J.A.; Fernandez-Ruiz, J. Involvement of vanilloid-like receptors in the effects of anandamide on motor behavior and nigrostriatal dopaminergic activity: In vivo and in vitro evidence. *Brain Res.* **2004**, *1007*, 152-159.
50. Cimini, A.; Benedetti, E.; Cristiano, L.; Sebastiani, P.; D'Amico, M.A.; D'Angelo, B.; Di Loreto, S. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors (ppars) and retinoic acid receptors (rxrs) in rat cortical neurons. *Neuroscience* **2005**, *130*, 325-337.

51. Moreno, S.; Farioli-Vecchioli, S.; Ceru, M.P. Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid x receptors in the adult rat cns. *Neuroscience* **2004**, *123*, 131-145.
52. Pistis, M.; Melis, M. From surface to nuclear receptors: The endocannabinoid family extends its assets. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17*, 1450-1467.
53. Ahn, K.; McKinney, M.K.; Cravatt, B.F. Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 1687-1707.
54. Shen, M.; Piser, T.M.; Seybold, V.S.; Thayer, S.A. Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *J. Neurosci.* **1996**, *16*, 4322-4334.
55. Chen, K.; Ratzliff, A.; Hilgenberg, L.; Gulyas, A.; Freund, T.F.; Smith, M.; Dinh, T.P.; Piomelli, D.; Mackie, K.; Soltesz, I. Long-term plasticity of endocannabinoid signaling induced by developmental febrile seizures. *Neuron* **2003**, *39*, 599-611.
56. McKinney, M.K.; Cravatt, B.F. Structure and function of fatty acid amide hydrolase. *Annu. Rev. Biochem.* **2005**, *74*, 411-432.
57. Dinh, T.P.; Freund, T.F.; Piomelli, D. A role for monoglyceride lipase in 2-arachidonoylglycerol inactivation. *Chem. Phys. Lipids* **2002**, *121*, 149-158.
58. Offermanns, S.; Rosenthal, W.; SpringerLink (Service en ligne). *Encyclopedia of molecular pharmacology*. 2nd ed.; Springer: Berlin ; New York, 2008; p. 1 texte électronique.

59. Meschler, J.P.; Conley, T.J.; Howlett, A.C. Cannabinoid and dopamine interaction in rodent brain: Effects on locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2000**, *67*, 567-573.
60. Polissidis, A.; Chouliara, O.; Galanopoulos, A.; Rentesi, G.; Dosi, M.; Hyphantis, T.; Marselos, M.; Papadopoulou-Daifoti, Z.; Nomikos, G.G.; Spyraiki, C.; Tzavara, E.T.; Antoniou, K. Individual differences in the effects of cannabinoids on motor activity, dopaminergic activity and darpp-32 phosphorylation in distinct regions of the brain. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2009**, 1-17.
61. Degroot, A.; Kofalvi, A.; Wade, M.R.; Davis, R.J.; Rodrigues, R.J.; Rebola, N.; Cunha, R.A.; Nomikos, G.G. Cb1 receptor antagonism increases hippocampal acetylcholine release: Site and mechanism of action. *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 1236-1245.
62. Oropeza, V.C.; Mackie, K.; Van Bockstaele, E.J. Cannabinoid receptors are localized to noradrenergic axon terminals in the rat frontal cortex. *Brain Res.* **2007**, *1127*, 36-44.
63. Balazsa, T.; Biro, J.; Gullai, N.; Ledent, C.; Sperlagh, B. Cb1-cannabinoid receptors are involved in the modulation of non-synaptic [3h]serotonin release from the rat hippocampus. *Neurochem. Int.* **2008**, *52*, 95-102.
64. Katona, I.; Urban, G.M.; Wallace, M.; Ledent, C.; Jung, K.M.; Piomelli, D.; Mackie, K.; Freund, T.F. Molecular composition of the endocannabinoid system at glutamatergic synapses. *J. Neurosci.* **2006**, *26*, 5628-5637.

65. Katona, I.; Sperlagh, B.; Sik, A.; Kafalvi, A.; Vizi, E.S.; Mackie, K.; Freund, T.F. Presynaptically located cb1 cannabinoid receptors regulate gaba release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J. Neurosci.* **1999**, *19*, 4544-4558.
66. Spencer, K.M.; Nestor, P.G.; Niznikiewicz, M.A.; Salisbury, D.F.; Shenton, M.E.; McCarley, R.W. Abnormal neural synchrony in schizophrenia. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 7407-7411.
67. Uhlhaas, P.J.; Haenschel, C.; Nikolic, D.; Singer, W. The role of oscillations and synchrony in cortical networks and their putative relevance for the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **2008**, *34*, 927-943.
68. Stella, N.; Piomelli, D. Receptor-dependent formation of endogenous cannabinoids in cortical neurons. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *425*, 189-196.
69. Galve-Roperh, I.; Palazuelos, J.; Aguado, T.; Guzman, M. The endocannabinoid system and the regulation of neural development: Potential implications in psychiatric disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin. Neurosci.* **2009**, *259*, 371-382.
70. Harkany, T.; Guzman, M.; Galve-Roperh, I.; Berghuis, P.; Devi, L.A.; Mackie, K. The emerging functions of endocannabinoid signaling during cns development. *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, *28*, 83-92.
71. Mulder, J.; Aguado, T.; Keimpema, E.; Barabas, K.; Ballester Rosado, C.J.; Nguyen, L.; Monory, K.; Marsicano, G.; Di Marzo, V.; Hurd, Y.L.; Guillemot, F.; Mackie, K.; Lutz, B.; Guzman, M.; Lu, H.C.; Galve-Roperh, I.; Harkany, T. Endocannabinoid signaling controls pyramidal cell specification and long-range axon patterning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2008**, *105*, 8760-8765.

72. Morozov, Y.M.; Freund, T.F. Postnatal development and migration of cholecystokinin-immunoreactive interneurons in rat hippocampus. *Neuroscience* **2003**, *120*, 923-939.
73. Berghuis, P.; Rajnicek, A.M.; Morozov, Y.M.; Ross, R.A.; Mulder, J.; Urban, G.M.; Monory, K.; Marsicano, G.; Matteoli, M.; Canty, A.; Irving, A.J.; Katona, I.; Yanagawa, Y.; Rakic, P.; Lutz, B.; Mackie, K.; Harkany, T. Hardwiring the brain: Endocannabinoids shape neuronal connectivity. *Science* **2007**, *316*, 1212-1216.
74. van Os, J.; Kapur, S. Schizophrenia. *Lancet* **2009**, *374*, 635-645.
75. Cao, Q.; Martinez, M.; Zhang, J.; Sanders, A.R.; Badner, J.A.; Cravchik, A.; Markey, C.J.; Beshah, E.; Guroff, J.J.; Maxwell, M.E.; Kazuba, D.M.; Whiten, R.; Goldin, L.R.; Gershon, E.S.; Gejman, P.V. Suggestive evidence for a schizophrenia susceptibility locus on chromosome 6q and a confirmation in an independent series of pedigrees. *Genomics* **1997**, *43*, 1-8.
76. Ujike, H.; Takaki, M.; Nakata, K.; Tanaka, Y.; Takeda, T.; Kodama, M.; Fujiwara, Y.; Sakai, A.; Kuroda, S. Cnr1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol. Psychiatry* **2002**, *7*, 515-518.
77. Chavarria-Siles, I.; Contreras-Rojas, J.; Hare, E.; Walss-Bass, C.; Quezada, P.; Dassori, A.; Contreras, S.; Medina, R.; Ramirez, M.; Salazar, R.; Raventos, H.; Escamilla, M.A. Cannabinoid receptor 1 gene (cnr1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* **2008**, *147*, 279-284.

78. Gadzicki, D.; Muller-Vahl, K.; Stuhmann, M. A frequent polymorphism in the coding exon of the human cannabinoid receptor (cnr1) gene. *Mol. Cell Probes* **1999**, *13*, 321-323.
79. Leroy, S.; Griffon, N.; Bourdel, M.C.; Olie, J.P.; Poirier, M.F.; Krebs, M.O. Schizophrenia and the cannabinoid receptor type 1 (cb1): Association study using a single-base polymorphism in coding exon 1. *Am. J. Med. Genet.* **2001**, *105*, 749-752.
80. Hamdani, N.; Tabeze, J.P.; Ramoz, N.; Ades, J.; Hamon, M.; Sarfati, Y.; Boni, C.; Gorwood, P. The cnr1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2008**, *18*, 34-40.
81. Tiwari, A.K.; Zai, C.C.; Likhodi, O.; Lisker, A.; Singh, D.; Souza, R.P.; Batra, P.; Zaidi, S.H.; Chen, S.; Liu, F.; Puls, I.; Meltzer, H.Y.; Lieberman, J.A.; Kennedy, J.L.; Muller, D.J. A common polymorphism in the cannabinoid receptor 1 (cnr1) gene is associated with antipsychotic-induced weight gain in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35*, 1315-1324.
82. Seifert, J.; Ossege, S.; Emrich, H.M.; Schneider, U.; Stuhmann, M. No association of cnr1 gene variations with susceptibility to schizophrenia. *Neurosci. Lett.* **2007**, *426*, 29-33.
83. Ishiguro, H.; Horiuchi, Y.; Ishikawa, M.; Koga, M.; Imai, K.; Suzuki, Y.; Morikawa, M.; Inada, T.; Watanabe, Y.; Takahashi, M.; Someya, T.; Ujike, H.; Iwata, N.; Ozaki, N.; Onaivi, E.S.; Kunugi, H.; Sasaki, T.; Itokawa, M.; Arai, M.;

- Niizato, K.; Iritani, S.; Naka, I.; Ohashi, J.; Kakita, A.; Takahashi, H.; Nawa, H.; Arinami, T. Brain cannabinoid cb2 receptor in schizophrenia. *Biol . Psychiatry* **2010**, *67*, 974-982.
84. Dean, B.; Sundram, S.; Bradbury, R.; Scarr, E.; Copolov, D. Studies on [3h] cp-55940 binding in the human central nervous system: Regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience* **2001**, *103*, 9-15.
 85. Zavitsanou, K.; Garrick, T.; Huang, X.F. Selective antagonist [3h]sr141716a binding to cannabinoid cb1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Prog . Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2004**, *28*, 355-360.
 86. Koethe, D.; Llenos, I.C.; Dulay, J.R.; Hoyer, C.; Torrey, E.F.; Leweke, F.M.; Weis, S. Expression of cb1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *J. Neural Transm.* **2007**, *114*, 1055-1063.
 87. Haznedar, M.M.; Buchsbaum, M.S.; Hazlett, E.A.; Shihabuddin, L.; New, A.; Siever, L.J. Cingulate gyrus volume and metabolism in the schizophrenia spectrum. *Schizophr. Res.* **2004**, *71*, 249-262.
 88. Newell, K.A.; Deng, C.; Huang, X.F. Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp. Brain Res.* **2006**, *172*, 556-560.
 89. Uriguen, L.; Garcia-Fuster, M.J.; Callado, L.F.; Morentin, B.; La Harpe, R.; Casado, V.; Lluís, C.; Franco, R.; Garcia-Sevilla, J.A.; Meana, J.J. Immunodensity and mrna expression of a2a adenosine, d2 dopamine, and cb1 cannabinoid

- receptors in postmortem frontal cortex of subjects with schizophrenia: Effect of antipsychotic treatment. *Psychopharmacology (Berl)* **2009**, *206*, 313-324.
90. Wong, D.F.; Kuwabara, H.; Horti, A.G.; Raymont, V.; Brasic, J.; Guevara, M.; Ye, W.; Dannals, R.F.; Ravert, H.T.; Nandi, A.; Rahmim, A.; Ming, J.E.; Grachev, I.; Roy, C.; Cascella, N. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (cb1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel pet radioligand [(11)c] omar. *Neuroimage* **2010**.
 91. Palmer, B.W.; Dawes, S.E.; Heaton, R.K. What do we know about neuropsychological aspects of schizophrenia? *Neuropsychol. Rev.* **2009**, *19*, 365-384.
 92. Malone, D.T.; Kearn, C.S.; Chongue, L.; Mackie, K.; Taylor, D.A. Effect of social isolation on cb1 and d2 receptor and fatty acid amide hydrolase expression in rats. *Neuroscience* **2008**, *152*, 265-272.
 93. Seillier, A.; Advani, T.; Cassano, T.; Hensler, J.G.; Giuffrida, A. Inhibition of fatty-acid amide hydrolase and cb1 receptor antagonism differentially affect behavioural responses in normal and pcp-treated rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2010**, *13*, 373-386.
 94. Vigano, D.; Guidali, C.; Petrosino, S.; Realini, N.; Rubino, T.; Di Marzo, V.; Parolaro, D. Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2009**, *12*, 599-614.

95. Gorriti, M.A.; Rodriguez de Fonseca, F.; Navarro, M.; Palomo, T. Chronic (-)-delta9-tetrahydrocannabinol treatment induces sensitization to the psychomotor effects of amphetamine in rats. *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, *365*, 133-142.
96. Gorriti, M.A.; Ferrer, B.; del Arco, I.; Bermudez-Silva, F.J.; de Diego, Y.; Fernandez-Espejo, E.; Navarro, M.; Rodriguez de Fonseca, F. Acute delta9-tetrahydrocannabinol exposure facilitates quinpirole-induced hyperlocomotion. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2005**, *81*, 71-77.
97. Leweke, F.M.; Giuffrida, A.; Wurster, U.; Emrich, H.M.; Piomelli, D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport* **1999**, *10*, 1665-1669.
98. Giuffrida, A.; Leweke, F.M.; Gerth, C.W.; Schreiber, D.; Koethe, D.; Faulhaber, J.; Klosterkotter, J.; Piomelli, D. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology* **2004**, *29*, 2108-2114.
99. De Marchi, N.; De Petrocellis, L.; Orlando, P.; Daniele, F.; Fezza, F.; Di Marzo, V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids Health Dis.* **2003**, *2*, 5.
100. Potvin, S.; Kouassi, E.; Lipp, O.; Bouchard, R.H.; Roy, M.A.; Demers, M.F.; Gendron, A.; Astarita, G.; Piomelli, D.; Stip, E. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J. Psychopharmacol.* **2008**, *22*, 262-269.

101. Giuffrida, A.; Parsons, L.H.; Kerr, T.M.; Rodriguez de Fonseca, F.; Navarro, M.; Piomelli, D. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nat. Neurosci.* **1999**, *2*, 358-363.
102. Koethe, D.; Giuffrida, A.; Schreiber, D.; Hellmich, M.; Schultze-Lutter, F.; Ruhrmann, S.; Klosterkötter, J.; Piomelli, D.; Leweke, F.M. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br. J. Psychiatry* **2009**, *194*, 371-372.
103. Ferrer, B.; Gorriti, M.A.; Palomino, A.; Gornemann, I.; de Diego, Y.; Bermudez-Silva, F.J.; Bilbao, A.; Fernandez-Espejo, E.; Moratalla, R.; Navarro, M.; Rodriguez de Fonseca, F. Cannabinoid cb1 receptor antagonism markedly increases dopamine receptor-mediated stereotypies. *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, *559*, 180-183.
104. Di Marzo, V. Targeting the endocannabinoid system: To enhance or reduce? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7*, 438-455.
105. Mei, L.; Xiong, W.C. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* **2008**, *9*, 437-452.
106. Boucher, A.A.; Hunt, G.E.; Karl, T.; Micheau, J.; McGregor, I.S.; Arnold, J.C. Heterozygous neuregulin 1 mice display greater baseline and delta(9)-tetrahydrocannabinol-induced c-fos expression. *Neuroscience* **2007**, *149*, 861-870.
107. Boucher, A.A.; Arnold, J.C.; Duffy, L.; Schofield, P.R.; Micheau, J.; Karl, T. Heterozygous neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of delta9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)* **2007**, *192*, 325-336.

108. Drake, R.E.; Xie, H.; McHugo, G.J.; Green, A.I. The effects of clozapine on alcohol and drug use disorders among patients with schizophrenia. *Schizophr. Bull.* **2000**, *26*, 441-449.
109. Sundram, S.; Copolov, D.; Dean, B. Clozapine decreases [3h] cp 55940 binding to the cannabinoid 1 receptor in the rat nucleus accumbens. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2005**, *371*, 428-433.
110. Fukudome, Y.; Ohno-Shosaku, T.; Matsui, M.; Omori, Y.; Fukaya, M.; Tsubokawa, H.; Taketo, M.M.; Watanabe, M.; Manabe, T.; Kano, M. Two distinct classes of muscarinic action on hippocampal inhibitory synapses: M2-mediated direct suppression and m1/m3-mediated indirect suppression through endocannabinoid signalling. *Eur. J. Neurosci.* **2004**, *19*, 2682-2692.
111. Mailleux, P.; Vanderhaeghen, J.J. Dopaminergic regulation of cannabinoid receptor mrna levels in the rat caudate-putamen: An in situ hybridization study. *J. Neurochem.* **1993**, *61*, 1705-1712.
112. Meltzer, H.Y.; Li, Z.; Kaneda, Y.; Ichikawa, J. Serotonin receptors: Their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2003**, *27*, 1159-1172.
113. Secher, A.; Husum, H.; Holst, B.; Egerod, K.L.; Møllerup, E. Risperidone treatment increases cb1 receptor binding in rat brain. *Neuroendocrinology* **2010**, *91*, 155-168.
114. Weston-Green, K.; Huang, X.F.; Han, M.; Deng, C. The effects of antipsychotics on the density of cannabinoid receptors in the dorsal vagal complex of rats:

- Implications for olanzapine-induced weight gain. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2008**, *11*, 827-835.
115. Theisen, F.M.; Haberhausen, M.; Firnges, M.A.; Gregory, P.; Reinders, J.H.; Remschmidt, H.; Hebebrand, J.; Antel, J. No evidence for binding of clozapine, olanzapine and/or haloperidol to selected receptors involved in body weight regulation. *Pharmacogenomics J* **2007**, *7*, 275-281.
 116. Poncelet, M.; Barnouin, M.C.; Breliere, J.C.; Le Fur, G.; Soubrie, P. Blockade of cannabinoid (cb1) receptors by 141716 selectively antagonizes drug-induced reinstatement of exploratory behaviour in gerbils. *Psychopharmacology (Berl)* **1999**, *144*, 144-150.
 117. Ballmaier, M.; Bortolato, M.; Rizzetti, C.; Zoli, M.; Gessa, G.; Heinz, A.; Spano, P. Cannabinoid receptor antagonists counteract sensorimotor gating deficits in the phencyclidine model of psychosis. *Neuropsychopharmacology* **2007**, *32*, 2098-2107.
 118. Roser, P.; Vollenweider, F.X.; Kawohl, W. Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (cb1) receptor antagonists. *World J. Biol. Psychiatry* **2010**, *11*, 208-219.
 119. Horder, J.; Harmer, C.J.; Cowen, P.J.; McCabe, C. Reduced neural response to reward following 7 days treatment with the cannabinoid cb1 antagonist rimonabant in healthy volunteers. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2010**, 1-11.

120. Meltzer, H.Y.; Arvanitis, L.; Bauer, D.; Rein, W. Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder. *Am. J. Psychiatry* **2004**, *161*, 975-984.
121. Mechoulam, R.; Parker, L.A.; Gallily, R. Cannabidiol: An overview of some pharmacological aspects. *J. Clin. Pharmacol.* **2002**, *42*, 11S-19S.
122. Mechoulam, R.; Hanus, L. Cannabidiol: An overview of some chemical and pharmacological aspects. Part i: Chemical aspects. *Chem. Phys. Lipids* **2002**, *121*, 35-43.
123. Petitet, F.; Jeantaud, B.; Reibaud, M.; Imperato, A.; Dubroeuq, M.C. Complex pharmacology of natural cannabinoids: Evidence for partial agonist activity of delta9-tetrahydrocannabinol and antagonist activity of cannabidiol on rat brain cannabinoid receptors. *Life Sci.* **1998**, *63*, PL1-6.
124. Breivogel, C.S.; Griffin, G.; Di Marzo, V.; Martin, B.R. Evidence for a new g protein-coupled cannabinoid receptor in mouse brain. *Mol. Pharmacol.* **2001**, *60*, 155-163.
125. Hajos, N.; Ledent, C.; Freund, T.F. Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience* **2001**, *106*, 1-4.
126. Ryberg, E.; Larsson, N.; Sjogren, S.; Hjorth, S.; Hermansson, N.O.; Leonova, J.; Elebring, T.; Nilsson, K.; Drmota, T.; Greasley, P.J. The orphan receptor gpr55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152*, 1092-1101.

127. Huang, J.T.; Leweke, F.M.; Tsang, T.M.; Koethe, D.; Kranaster, L.; Gerth, C.W.; Gross, S.; Schreiber, D.; Ruhrmann, S.; Schultze-Lutter, F.; Klosterkotter, J.; Holmes, E.; Bahn, S. Csf metabolic and proteomic profiles in patients prodromal for psychosis. *PLoS One* **2007**, *2*, e756.
128. Dinu, I.R.; Popa, S.; Bicu, M.; Mota, E.; Mota, M. The implication of *cnr1* gene's polymorphisms in the modulation of endocannabinoid system effects. *Rom. J. Intern. Med.* **2009**, *47*, 9-18.
129. Bermudez-Silva, F.J.; Viveros, M.P.; McPartland, J.M.; Rodriguez de Fonseca, F. The endocannabinoid system, eating behavior and energy homeostasis: The end or a new beginning? *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2010**, *95*, 375-382.
130. Di Marzo, V.; Matias, I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat. Neurosci.* **2005**, *8*, 585-589.
131. Rodriguez de Fonseca, F.; Carrera, M.R.; Navarro, M.; Koob, G.F.; Weiss, F. Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science* **1997**, *276*, 2050-2054.
132. Beinfeld, M.C.; Connolly, K. Activation of *cb1* cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium-evoked cholecystokinin release, a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids. *Neurosci. Lett.* **2001**, *301*, 69-71.
133. Karaliota, S.; Siafaka-Kapadai, A.; Gontinou, C.; Psarra, K.; Mavri-Vavayanni, M. Anandamide increases the differentiation of rat adipocytes and causes ppargamma and *cb1* receptor upregulation. *Obesity (Silver Spring)* **2009**, *17*, 1830-1838.

134. Cota, D.; Marsicano, G.; Tschop, M.; Grubler, Y.; Flachskamm, C.; Schubert, M.; Auer, D.; Yassouridis, A.; Thone-Reineke, C.; Ortmann, S.; Tomassoni, F.; Cervino, C.; Nisoli, E.; Linthorst, A.C.; Pasquali, R.; Lutz, B.; Stalla, G.K.; Pagotto, U. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J. Clin. Invest.* **2003**, *112*, 423-431.
135. Osei-Hyiaman, D.; DePetrillo, M.; Pacher, P.; Liu, J.; Radaeva, S.; Batkai, S.; Harvey-White, J.; Mackie, K.; Offertaler, L.; Wang, L.; Kunos, G. Endocannabinoid activation at hepatic cb1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 1298-1305.
136. Schleinitz, D.; Carmienke, S.; Bottcher, Y.; Tonjes, A.; Berndt, J.; Kloting, N.; Enigk, B.; Muller, I.; Dietrich, K.; Breitfeld, J.; Scholz, G.H.; Engeli, S.; Stumvoll, M.; Bluher, M.; Kovacs, P. Role of genetic variation in the cannabinoid type 1 receptor gene (cnr1) in the pathophysiology of human obesity. *Pharmacogenomics* **2010**, *11*, 693-702.
137. Lee, H.K.; Choi, E.B.; Pak, C.S. The current status and future perspectives of studies of cannabinoid receptor 1 antagonists as anti-obesity agents. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 482-503.
138. Hennekens, C.H.; Hennekens, A.R.; Hollar, D.; Casey, D.E. Schizophrenia and increased risks of cardiovascular disease. *Am. Heart J.* **2005**, *150*, 1115-1121.
139. Allison, D.B.; Mackell, J.A.; McDonnell, D.D. The impact of weight gain on quality of life among persons with schizophrenia. *Psychiatr. Serv.* **2003**, *54*, 565-567.

140. Weiden, P.J.; Mackell, J.A.; McDonnell, D.D. Obesity as a risk factor for antipsychotic noncompliance. *Schizophr. Res.* **2004**, *66*, 51-57.
141. Meyer, J.M.; Stahl, S.M. The metabolic syndrome and schizophrenia. *Acta Psychiatr. Scand.* **2009**, *119*, 4-14.
142. Venkatasubramanian, G.; Chittiprol, S.; Neelakantachar, N.; Naveen, M.N.; Thirthall, J.; Gangadhar, B.N.; Shetty, K.T. Insulin and insulin-like growth factor-1 abnormalities in antipsychotic-naive schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* **2007**, *164*, 1557-1560.
143. Spelman, L.M.; Walsh, P.I.; Sharifi, N.; Collins, P.; Thakore, J.H. Impaired glucose tolerance in first-episode drug-naive patients with schizophrenia. *Diabet. Med.* **2007**, *24*, 481-485.
144. Randall, M.D.; Kendall, D.A.; Bennett, A.J.; O'Sullivan, S.E. Rimonabant in obese patients with type 2 diabetes. *Lancet* **2007**, *369*, 555.
145. Tarcin, O.; Bajaj, M.; Akalin, S. Insulin resistance, adipocyte biology, and thiazolidinediones: A review. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2007**, *5*, 103-115.
146. Fu, J.; Gaetani, S.; Oveisi, F.; Lo Verme, J.; Serrano, A.; Rodriguez De Fonseca, F.; Rosengarth, A.; Luecke, H.; Di Giacomo, B.; Tarzia, G.; Piomelli, D. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor ppar-alpha. *Nature* **2003**, *425*, 90-93.
147. Maldonado, R.; Valverde, O.; Berrendero, F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci.* **2006**, *29*, 225-232.

148. Gardner, E.L. Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2005**, *81*, 263-284.
149. Lupica, C.R.; Riegel, A.C. Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: A potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology* **2005**, *48*, 1105-1116.
150. Sipe, J.C.; Chiang, K.; Gerber, A.L.; Beutler, E.; Cravatt, B.F. A missense mutation in human fatty acid amide hydrolase associated with problem drug use. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2002**, *99*, 8394-8399.
151. Agrawal, A.; Wetherill, L.; Dick, D.M.; Xuei, X.; Hinrichs, A.; Hesselbrock, V.; Kramer, J.; Nurnberger, J.I., Jr.; Schuckit, M.; Bierut, L.J.; Edenberg, H.J.; Foroud, T. Evidence for association between polymorphisms in the cannabinoid receptor 1 (cnr1) gene and cannabis dependence. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* **2009**, *150B*, 736-740.
152. Proudnikov, D.; Krosiak, T.; Sipe, J.C.; Randesi, M.; Li, D.; Hamon, S.; Ho, A.; Ott, J.; Kreek, M.J. Association of polymorphisms of the cannabinoid receptor (cnr1) and fatty acid amide hydrolase (faah) genes with heroin addiction: Impact of long repeats of cnr1. *Pharmacogenomics J* **2010**, *10*, 232-242.
153. Zuo, L.; Kranzler, H.R.; Luo, X.; Covault, J.; Gelernter, J. Cnr1 variation modulates risk for drug and alcohol dependence. *Biol. Psychiatry* **2007**, *62*, 616-626.

154. Benyamina, A.; Kebir, O.; Blecha, L.; Reynaud, M.; Krebs, M.O. Cnr1 gene polymorphisms in addictive disorders: A systematic review and a meta-analysis. *Addict. Biol.* **2010**.
155. Zhang, P.W.; Ishiguro, H.; Ohtsuki, T.; Hess, J.; Carillo, F.; Walther, D.; Onaivi, E.S.; Arinami, T.; Uhl, G.R. Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Mol. Psychiatry* **2004**, *9*, 916-931.
156. Clapper, J.R.; Mangieri, R.A.; Piomelli, D. The endocannabinoid system as a target for the treatment of cannabis dependence. *Neuropharmacology* **2009**, *56 Suppl 1*, 235-243.
157. Howlett, A.C. Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1995**, *35*, 607-634.
158. Mackie, K. Signaling via cns cannabinoid receptors. *Mol. Cell Endocrinol.* **2008**, *286*, S60-65.
159. Bossong, M.G.; van Berckel, B.N.; Boellaard, R.; Zuurman, L.; Schuit, R.C.; Windhorst, A.D.; van Gerven, J.M.; Ramsey, N.F.; Lammertsma, A.A.; Kahn, R.S. Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology* **2009**, *34*, 759-766.
160. Kegeles, L.S.; Abi-Dargham, A.; Frankle, W.G.; Gil, R.; Cooper, T.B.; Slifstein, M.; Hwang, D.R.; Huang, Y.; Haber, S.N.; Laruelle, M. Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* **2010**, *67*, 231-239.

161. Stokes, P.R.; Mehta, M.A.; Curran, H.V.; Breen, G.; Grasby, P.M. Can recreational doses of the produce significant dopamine release in the human striatum? *Neuroimage* **2009**, *48*, 186-190.
162. Mueser, K.T.; Drake, R.E.; Wallach, M.A. Dual diagnosis: A review of etiological theories. *Addict. Behav.* **1998**, *23*, 717-734.
163. Leweke, F.M.; Giuffrida, A.; Koethe, D.; Schreiber, D.; Nolden, B.M.; Kranaster, L.; Neatby, M.A.; Schneider, M.; Gerth, C.W.; Hellmich, M.; Klosterkotter, J.; Piomelli, D. Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: Impact of cannabis use. *Schizophr. Res.* **2007**, *94*, 29-36.
164. Melis, M.; Pillolla, G.; Luchicchi, A.; Muntoni, A.L.; Yasar, S.; Goldberg, S.R.; Pistis, M. Endogenous fatty acid ethanolamides suppress nicotine-induced activation of mesolimbic dopamine neurons through nuclear receptors. *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 13985-13994.

© 2010 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license.

3. Article 2

Plasma endocannabinoid alterations in individuals with substance use disorder are dependent on the mirror effect of schizophrenia

Joëlle Desfossés MD^{1 2}, Emmanuel Stip MD MSc², Lahcen Ait Bentaleb MD PhD²,
Olivier Lipp MD^{1 2}, Alexandra Furtos PhD³, Karine Venne MSc³, Edouard Kouassi
PhD⁴, Stéphane Potvin PhD^{1 2}

¹ Centre de Recherche Fernand-Seguin, Louis-H Lafontaine hospital

² Department of Psychiatry, University of Montreal

³ Department of chemistry, University of Montreal

⁴ Department of medicine, University of Montreal

Abstract

Schizophrenia is a complex psychiatric disorder strongly associated with substance use disorders (SUD). Admittedly, schizophrenia and SUD may share endocannabinoid alterations in the brain reward system. The main endocannabinoids, anandamide and 2-arachydonoylglycerol, are lipids which bind cannabinoid receptors. Oleylethanolamide (OEA), a fatty acid ethanolamide, binds peroxisome proliferator-activated receptors. The endocannabinoid system is disturbed in schizophrenia, as significant elevations of cerebrospinal fluid anandamide levels have been found in these patients. **Objectives** In a case-control study, we aimed to measure endocannabinoids in individuals with schizophrenia and/or SUD. **Methods** Our study examined anandamide and OEA in four groups: substance abusers with and without schizophrenia, non-abusing schizophrenia patients, and healthy controls. In an open-label manner, all patients received 12-week treatment with quetiapine. Plasma anandamide and OEA levels were measured using liquid chromatography and mass spectrometry. **Results** Anandamide and OEA were elevated in dual diagnosis schizophrenia and reduced in substance abusers without schizophrenia relative to healthy controls ($p < 0.05$). Both endocannabinoids were unchanged in non-abusing schizophrenia patients. After quetiapine, anandamide and OEA levels remained significantly elevated and significantly reduced in the dual-diagnosis and the substance abuse groups, respectively ($p < 0.05$). **Discussion** Peripheral anandamide and OEA levels are impaired in patients with SUD in opposite ways according to the presence or absence of schizophrenia. Endocannabinoid alterations did not change with treatment, suggesting that they are trait markers. Further studies are necessary to understand the role of endocannabinoids in substance abusers with and without comorbid schizophrenia and to examine therapeutic implications.

Keywords Schizophrenia, endocannabinoids, anandamide, oleylethanolamide, substance use disorder, vulnerability marker

Introduction

Schizophrenia is a complex disease encompassing 0,87% of the general population (1). Psychiatric symptoms and comorbidities such as substance use disorder (SUD) contribute to the associated disability. The lifetime prevalence of SUD is approximately 40% in schizophrenia (2). It has a negative impact on drug compliance, psychotic relapses and on prognosis. Patients with schizophrenia are more prone to substance abuse than the general population and 25% have a lifetime prevalence of cannabis abuse/dependence, the most widely used illicit psychoactive substance worldwide (3). Cannabinoid intoxication can provoke cognitive deficits and psychiatric symptoms akin to the cognitive and positive symptoms of schizophrenia (4). Chronically, cannabis smoking seems to provoke an amotivational syndrome similar to the negative symptoms of the disorder (5). Cannabinoid intoxication has therefore become a valid psychosis model, because its effects are representative of the full spectrum of schizophrenia symptoms. The endogenous cannabinoid (ECB) system may help to understand the link between schizophrenia and substance abuse.

The main ECBs, anandamide and 2-arachydonoylglycerol (2-AG), are lipids naturally derived from membrane precursors which bind cannabinoid receptors (CB₁, CB₂) (6). Although structurally related to anandamide, palmithylethanolamide (PEA) and oleylethanolamide (OEA) are two non-cannabinoid natural bioactive fatty-acid ethanolamides (FAEA), as these lipids do not bind cannabinoids receptors, but bind with high affinity to the peroxisome-proliferator-activated receptor- alpha (PPAR- α) (7).

ECBs are synthesized on request by neurotransmitters and the ECB system is involved in several neuromodulation processes.

Preliminary evidence suggests that the ECB system is disturbed in schizophrenia (8). Indeed, postmortem human brain studies have shown that CB₁ receptor density is elevated in several brain regions involved in the pathophysiology of schizophrenia, such as the prefrontal cortex, the hippocampus and the basal ganglia (9). Similarly, a recent positron emission tomography (PET) study has brought new insights about the link between schizophrenia and CB₁ receptors. *In vivo*, it showed an elevation of CB₁ receptor binding in patients with schizophrenia across many brain regions, significantly in the pons, relative to healthy controls (10). CB₁ receptor functioning may also be altered in schizophrenia in brain regions involved in cognition. Moreover, anandamide levels are increased in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with schizophrenia compared to healthy controls (11) and to individuals with other psychiatric disorders (12). Inconsistently, anandamide levels have also been shown to be elevated in the serum of schizophrenia patients (13), including during the prodromal state (14), suggesting that anandamide may play a protective role in psychosis homeostasis.

Theoretically, schizophrenia and SUD may share ECB alterations in the brain reward system. The study of ECB ligands, such as anandamide and OEA, may provide mechanistic explanations for the increased vulnerability to SUD in schizophrenia patients and/or the increased vulnerability to develop psychotic symptoms in individuals with SUD. Studies are therefore needed to explore the role of the ECB system in the pathophysiology of schizophrenia which consider the impact of substance abuse.

A previous study of our group of research examined plasmatic endocannabinoid in patients with dual diagnosis schizophrenia (15). Plasma anandamide and OEA levels were elevated at baseline in patients compared to controls and were not modified after 12 weeks of treatment with the second-generation antipsychotic quetiapine. In the present study, we report plasma anandamide and OEA concentrations in substance abusers without schizophrenia and in non-abusing schizophrenia patients assessed in the same clinical conditions and included following the same criteria as the patients with dual diagnosis. We examined endocannabinoid outcomes in substance abusers without schizophrenia and in non-abusing schizophrenia patients undergoing 12-week treatment with quetiapine. This antipsychotic was chosen because it has previously been shown to improve substance use and psychiatric outcomes in psychosis, dual diagnosis and non-psychosis patients (15-18). Importantly, this is the first case-control study of its kind to trace endocannabinoid outcomes prospectively in these groups. During the trial, we sought to determine whether: (i) baseline plasma anandamide and OEA concentrations were different between patients and controls, (ii) plasma anandamide and OEA levels varied from baseline to endpoint.

Methods

Participants

To complement the data collected previously in DD patients and healthy controls (HC) (15), three groups of participants were recruited, namely: (i) non-abusing patients with schizophrenia-spectrum disorders (schizophrenia, schizoaffective disorder,

schizophreniform disorder; SCZ group); (ii) non-psychotic substance abusers in detoxification (SUD group); and (iii) a new group of HC. Psychiatric and SUD were diagnosed by well-trained psychiatrists and physicians, and were all based on DSM-IV criteria. SUD diagnoses were complemented with urine drug screenings. All participants signed a detailed consent form. The study was approved by the local ethics committee.

For all three patient groups (DD, SCZ & SUD), exclusion criteria were: (i) patients already on clozapine or quetiapine; (ii) patients hospitalized in a psychiatric unit; (iii) pregnancy; (iv) female subjects of childbearing potential or inadequate contraception; and (v) clinically meaningful unstable, renal, hepatic, cardiovascular, respiratory, cerebro-vascular, or other serious, progressive physical disease. For the DD and SCZ groups, patients were excluded if their total score on the *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS; (19)) was lower than 65. On baseline, DD patients were diagnosed with one or more of the following SUD (abuse or dependence): cannabis (n=18), alcohol (n=15), stimulants (n=9) and hallucinogens (n=2). SUD patients were diagnosed with one or more of the following SUD: alcohol (n=24); cannabis (n=20); stimulants (n=15). On baseline, DD patients were receiving one or more first-generation (n=9) or second-generation antipsychotics (n=25), and 2 patient were drug-free. SCZ patient received one or more first-generation (n=5) or second-generation antipsychotics (n=14), 4 patients were drug-free. For study completers, the mean quetiapine dose was 553.9mg (254.9), 478.3mg (272.0) and 150.0mg (117.7) in the DD, SCZ and SUD groups, respectively.

Clinical assessments

Psychiatric symptoms were measured using the PANSS and the *Calgary Depression Scale for Schizophrenia* (CDSS; (20)). Quantities of substances used in the last week were also registered, using the TimeLine Follow-Back (TLFB) procedure (21). Quantities used were noted for all substances. Amount spent on substances was calculated based on the value market in Quebec province (Canada). To complement our evaluation of SUD, urine screenings were performed before and after treatment. SUD severity was also evaluated using the *Alcohol Use and the Drug Use Scales* (22) (for more information, see (15, 18)).

Analysis of AEA and OEA from plasma

We collected blood samples (2 mL) using heparinized tubes. Within 1 h, blood samples were centrifuged (3200 rpm for 15 min), and plasma (1 mL) was stored at -80°C in glass vials. Blood samples were collected before and after treatment. All extraction manipulations were done on ice or at 4°C. Plasma (500µL) was spiked with 1ng of internal standard AEA-d8. All samples were thoroughly vortexed and centrifuged at 15000g for 5 minutes. The Solid Phase Extraction was conducted according to the method developed by Marczylo et al. with slight modifications (23). LC-MS-MS analyses were performed on a Surveyor coupled to a TSQ Quantum AM Ultra (ThermoFisher, San Jose, CA) operating in positive electrospray mode. For each analyte, silver adducts were selected for multiple reaction monitoring (MRM). Injections of 5µL were done on a 2.6µm Kinetex C18 3.0 x 100mm column

(Phenomenex, Torrance, CA) and separated using a linear gradient. The eluants consisted of 70 μ M aqueous silver acetate (solvent A), 70 μ M silver acetate in 90% methanol /10% H₂O (solvent B) and 70 μ M silver acetate in 90% acetonitrile/10% H₂O (solvent C). The separation started at 30%A, 20%B and 50%C and ended at 0%A, 20%B and 80%C for a total run time of 20 minutes. The lowest limits of quantitation were 0,10 ng/mL for AEA and 0,17ng/mL for OEA.

Statistical analyses

Baseline differences between SCZ patients, SUD patients and HC were analyzed using one-way analyses of variance (ANOVA) with group as the independent variable. Dichotomous variables were evaluated using Pearson's chi-square test. Multiple comparisons were performed using the Bonferroni correction. Changes in substance abuse and psychiatric symptoms were analyzed using repeated-measures ANOVA. Last-observation carried forward (LOCF) was used. The level of significance was set at $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using the Predictive Analytics SoftWare (PASW; version 18).

Results

Participants

Twenty-nine DD patients were prescribed quetiapine; of these, 2 were lost-to-follow-up and 3 dropped out due to side-effects. Twenty-five SCZ patients were prescribed quetiapine; of these, 2 were lost-to-follow-up. Thirty-eight SUD patients were recruited,

and 33 SUD patients were prescribed quetiapine; of these, 2 were lost-to-follow-up, 2 dropped out due to side-effects, and 3 dropped out due to SUD relapse. Therefore, LOCF analysis was available for 24, 23, and 26 patients in the DD, SCZ and SUD groups, respectively.

Socio-demographic variables

Compared to original HC, DD patients did not differ in terms of age, sex, ethnicity and weight (for more information, see Potvin (15)). Similarly, SCZ patients, SUD patients and HC did not differ in terms of age [HC: 37.1 (12.5); SCZ: 40.3 (12.6); SUD: 37.9 (12.1); $F=0.5$; $p=0.626$], sex [HC: 16 males (M), 11 females (F); SCZ: 17M, 8F; SUD: 25M, 13F; $\chi^2=0.5$; $p=0.785$], ethnicity [HC: 26 Caucasian; SCZ: 22 Caucasian; SUD: 34 Caucasian; $\chi^2=1.3$; $p=0.517$] and weight [HC: 76.3 (16.2); SCZ: 76.9 (13.2); SUD: 76.5 (18.0); $F=0.01$; $p=0.992$].

SUD outcomes

In both DD and SUD patients, all substance use outcomes significantly improved during treatment ($p<0.05$) (for more information, see Potvin (15); (18)).

Psychiatric symptoms

On baseline, SCZ and SUD patients had similar positive symptoms [SCZ: 17.4 (4.4); SUD: 16.2 (5.1); $F=3.2$; $p=0.08$]; SCZ patients had more negative symptoms than SUD patients [SCZ: 16.9 (4.7); SUD: 13.6 (4.7); $F=7.2$; $p=0.01$]; and SUD patients had more

depressive symptoms than SCZ patients [SCZ: 3.6 (4.4); SUD: 6.8 (4.4); $F=8.4$; $p=0.005$](24). In all 3 patient groups (DD, SCZ and SUD), psychiatric symptoms (positive, negative and depressive) significantly improved during treatment ($p<0.05$) (for more information, see Potvin (15); (24)).

Endocannabinoids

Compared to HC who did not differ in terms of age, sex, ethnicity and weight, peripheral anandamide and OEA levels were significantly elevated in DD patients, relative to HC [Anandamide: HC: 2.1 pmol (1.2); DD: 6.3 pmol (6.3); $F=7.1$; $p=0.011$] [OEA: HC: 4.5 pmol (1.6); DD: 22.1 pmol (29.6); $U=63.0$; $p=0.0001$]. Unchanged during treatment ($p>0.6$), plasma anandamide and OEA levels remained elevated in the DD group after treatment (for more information, see Potvin (15)). Compared to a new group of HC, plasma anandamide and OEA levels were significantly reduced in SUD patients, but not in SCZ patients (Table 1). Peripheral anandamide and OEA remained reduced in the SUD group after quetiapine treatment (Table 2).

Discussion

This study highlighted a striking opposite phenomenon, namely that peripheral anandamide and OEA levels are elevated in dual-diagnosis schizophrenia while both being reduced in substance abusers without schizophrenia. Conversely, plasma anandamide and OEA in schizophrenia patients without substance abuse were unchanged compared to controls. As already shown in our previous study (15), there

was no change in ECB levels during quetiapine treatment, despite improvements in psychiatric symptoms and substance use outcomes. Given that anandamide and OEA alterations are not state-dependent, such results strongly suggest that ECB alterations are trait markers of SUD.

Our results have shown that the involvement of ECBs in SUDs is expressed in opposite ways, according to the presence or absence of a comorbid schizophrenia diagnosis, suggesting a “mirror effect”. Such a result must be interpreted cautiously. On one hand, given the role of ECBs in the brain reward system, it is possible that elevations of anandamide and OEA levels constitute risk factors leading to SUDs in individuals with psychosis vulnerability. Alternatively, it is also possible that anandamide and OEA elevations are endogenous markers of psychosis vulnerability in the context of substance abuse, more precisely cannabis abuse. Consistently with this latter interpretation, it has been shown that cannabis smoking can produce psychotomimetic effects, and that it moderately increases the risk for psychotic symptoms (25). Moreover, it has been shown that anandamide levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia, compared to healthy controls (12).

To explain the striking “mirror effect” reported here, one potential explanation may be related to the fact that Δ^9 -THC, the main psychoactive agent of cannabis, is a partial agonist at CB₁ receptors (26), and may therefore produce opposing effects on anandamide and OEA based on *priori* psychosis vulnerability. Alternatively, it may produce different psychiatric effects based depending on the individual’s basal ECB tone. To explain this “mirror effect”, it may also be relevant to consider the balance

between dopamine and ECBs in psychosis homeostasis. Some authors have proposed that dopamine sensitization, a pathophysiological process underlying the positive symptoms of schizophrenia (27), could make schizophrenia patients more sensitive to the rewarding effects of psychoactive substances (28). Furthermore, ECBs mainly modulate dopaminergic neurotransmission in pre-synaptic neurons, where CB₁ receptors are located (29, 30). CB₁ and D₂ receptors are highly co-expressed in the striatum and dopamine causes transient calcium-dependent release of ECBs in the ventral tegmental area (31-33). In addition, anandamide can inhibit dopamine release in the striatum, as a retrograde messenger (34). Given that schizophrenia is associated with a hyper-dopaminergic state (35, 36), we can evoke a compensatory elevation of anandamide and OEA as a fine-tuning on dopamine activity to explain our results in the dual-diagnosis group. On the opposite, the chronic use of psychoactive substances has been shown to down-regulate striatal dopaminergic neurotransmission (37-44). This hypo-dopaminergic state associated with substance abuse could lead to a reduction of anandamide and OEA activity, which could explain our results in the non-psychosis group of substance abusers. Of interest, anandamide and OEA have also a high affinity for the intracellular binding site of the peroxisome-proliferator-activated receptors (PPARs) which confers anti-addictive properties to anandamide and OEA (45). Of note, anandamide inhibits dopamine release in the mesolimbic brain reward system via PPAR α (46). The elevation of OEA and anandamide in dual diagnosis psychosis may activate PPAR- α to attenuate a hyper-dopaminergic state. Similarly, anandamide is a full TRPV1 receptor (transient receptor potential, vanilloid sub-type) agonist (47, 48).

Given that *in vitro* and *in vivo* evidences tend to demonstrate that TRPV1 receptor activators inhibit dopamine release (49), the elevation of anandamide could be a compensatory phenomenon to decrease striatal dopamine release in presence of psychosis or psychosis vulnerability.

One of the research implication of our results is that longitudinal studies would be needed in adolescent substance users, before they develop schizophrenia or SUD, to understand the involvement of ECBs in SUD – with a particular attention to specific substances, such as alcohol, cannabis and stimulants. Our results may also have future implications for the pharmacological treatment of SUDs, as they suggest that CB₁ or PPARs agonists would be required in substance abusers, whereas CB₁ or PPAR antagonists would be required in dual diagnosis schizophrenia patients. Interestingly, CB₁ antagonists have been shown in pre-clinical models of addiction to hold promise for the treatment alcohol (50, 51). Rimonabant, a CB₁ receptor antagonist, may be a potential pharmacotherapy for psychostimulant addiction, since it has a role in psychostimulant reward memory (52). Moreover, pioglitazone binds with high affinity and activates PPAR- γ receptors. Given orally at dosage of 10 and 30 mg/kg, it selectively reduced alcohol drinking and also prevented the expression of somatic signs of alcohol withdrawal. Pioglitazone thus becomes a candidate treatment for alcoholism and possibly other SUDs (53). The adequate pharmacological modulation of ECB tone could also provide interesting therapeutic targets. One of them is fatty-acid amide hydrolase (FAAH), the enzyme responsible for the degradation of anandamide and OEA, which offers a more selective way to alter ECB activity. FAAH inhibitors seem to

be potent modulators of motivation and goal-directed behaviours associated with substance use disorder (such as cocaine) without reducing consumption in rat models (54). Moreover, an anandamide uptake inhibitor, AM404, has been shown to reverse the rewarding effects of cocaine (55). Drugs modulating endocannabinoid tone hold promise for the treatment for various psychological and behavioural aspects of addiction.

Our study has three main limitations. First, we measured peripheral, not central, levels of anandamide and OEA, and this may have influenced our results. For instance, the absence of difference in plasma anandamide and OEA between non-abusing patients with schizophrenia-spectrum disorders and controls might be explained by various peripheral influences, especially since ECBs are involved in various systems (56-59). Our negative finding result in the schizophrenia group does not preclude central ECB disturbances, which have already been demonstrated in schizophrenia (12). Another limitation of our study is the inclusion in the non-abusing schizophrenia group of a small number of patients. The lack of difference in ECB levels between non-abusing schizophrenia patients and controls could therefore be explained by a type-II error. Finally, our study was limited by the inclusion of various psychoactive substances, making the attribution of our results to specific substances difficult.

Conclusion

Our study has highlighted a “mirror effect” of comorbid schizophrenia on peripheral ECB alterations in SUDs. Given the lack of changes during treatment in ECB levels, our results further suggest that ECB alterations in SUD are trait-, not state-,

dependent. Longitudinal studies are required to investigate the biological reasons for the inverted pattern of ECB alterations in substance abusers with and without schizophrenia. The precise role of specific psychoactive substances on our results will also need to be determined. Research in this field could significantly help elucidate the neurobiological dysfunctions underlying the schizophrenia-substance abuse comorbidity, and it may also open new therapeutic perspectives in the future.

Acknowledgments

This study was funded by a Catalyst grant from the *Canadian Institute of Health Research* and an academic partnership between the Louis-H Lafontaine Foundation and AstraZeneca Pharmaceuticals. Joelle Desfossés is holder of a Frederick Banting and Charles Best Canada Graduate Scholarships-Master's Award from the *Canadian Institutes of Health Research*. Stéphane Potvin is holder of a Junior1 salary award from the *Fonds de la Recherche en Santé du Québec*. Emmanuel Stip is holder of the *Eli Lilly Chair of Schizophrenia from the University of Montreal*.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest

References

1. Perala J, Suvisaari J, Saarni SI, Kuoppasalmi K, Isometsa E, Pirkola S, et al. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry*. 2007 Jan;64(1):19-28.
2. Regier DA, Farmer ME, Rae DS, Locke BZ, Keith SJ, Judd LL, et al. Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse. Results from the Epidemiologic Catchment Area (ECA) Study. *JAMA*. 1990 Nov 21;264(19):2511-8.
3. Jablensky A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2000;250(6):274-85.
4. D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, et al. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Aug;29(8):1558-72.
5. Nunez LA, Gurpegui M. Cannabis-induced psychosis: a cross-sectional comparison with acute schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*. 2002 Mar;105(3):173-8.
6. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol*. 1999 Jul;58(4):315-48.
7. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodriguez De Fonseca F, et al. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature*. 2003 Sep 4;425(6953):90-3.

8. Desfossés J, Stip E, Bentaleb LA, Potvin S. Endocannabinoids and schizophrenia. *Pharmaceuticals* 2010. p. 3101-26.
9. Dean B, Sundram S, Bradbury R, Scarr E, Copolov D. Studies on [³H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*. 2001;103(1):9-15.
10. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, Raymont V, Brasic J, Guevara M, et al. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [¹¹C]OMAR. *Neuroimage*. 2010 Oct 1;52(4):1505-13.
11. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*. 1999 Jun 3;10(8):1665-9.
12. Giuffrida A, Leweke FM, Gerth CW, Schreiber D, Koethe D, Faulhaber J, et al. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Nov;29(11):2108-14.
13. De Marchi N, De Petrocellis L, Orlando P, Daniele F, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids Health Dis*. 2003 Aug 19;2:5.

14. Koethe D, Giuffrida A, Schreiber D, Hellmich M, Schultze-Lutter F, Ruhrmann S, et al. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br J Psychiatry*. 2009 Apr;194(4):371-2.
15. Potvin S, Kouassi E, Lipp O, Bouchard RH, Roy MA, Demers MF, et al. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol*. 2008 May;22(3):262-9.
16. Kampman KM, Pettinati HM, Lynch KG, Whittingham T, Macfadden W, Dackis C, et al. A double-blind, placebo-controlled pilot trial of quetiapine for the treatment of Type A and Type B alcoholism. *J Clin Psychopharmacol*. 2007 Aug;27(4):344-51.
17. Martinotti G, Andreoli S, Di Nicola M, Di Giannantonio M, Sarchiapone M, Janiri L. Quetiapine decreases alcohol consumption, craving, and psychiatric symptoms in dually diagnosed alcoholics. *Hum Psychopharmacol*. 2008 Jul;23(5):417-24.
18. Rizkallah E, Stip E, Zhornitsky S, Pampoulova T, Gendron A, Rompre PP, et al. Clinical evolution of substance use disorder patients during treatment with quetiapine: a 12-week, open-label, naturalistic trial. *Expert Opin Pharmacother*. 2010 Dec;11(18):2947-51.
19. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13(2):261-76.

20. Addington D, Addington J, Maticka-Tyndale E. Assessing depression in schizophrenia: the Calgary Depression Scale. *Br J Psychiatry Suppl.* 1993 Dec (22):39-44.
21. Sobell LC, Toneatto T, Sobell MB, Leo GI, Johnson L. Alcohol abusers' perceptions of the accuracy of their self-reports of drinking: implications for treatment. *Addict Behav.* 1992 Sep-Oct;17(5):507-11.
22. Drake RE, Osher FC, Noordsy DL, Hurlbut SC, Teague GB, Beaudett MS. Diagnosis of alcohol use disorders in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 1990;16(1):57-67.
23. Marczylo TH, Lam PM, Nallendran V, Taylor AH, Konje JC. A solid-phase method for the extraction and measurement of anandamide from multiple human biomatrices. *Anal Biochem.* 2009 Jan 1;384(1):106-13.
24. Zhornitsky S, Stip E, Pampoulova T, Rizkallah E, Lipp O, Bentaleb LA, et al. Extrapyramidal symptoms in substance abusers with and without schizophrenia and in nonabusing patients with schizophrenia. *Mov Disord.* 2010 Oct 15;25(13):2188-94.
25. Arseneault L, Cannon M, Witton J, Murray RM. Causal association between cannabis and psychosis: examination of the evidence. *Br J Psychiatry.* 2004 Feb;184:110-7.
26. Pertwee RG. Pharmacological actions of cannabinoids. *Handb Exp Pharmacol.* 2005(168):1-51.

27. Ujike H. Stimulant-induced psychosis and schizophrenia: the role of sensitization. *Curr Psychiatry Rep.* 2002 Jun;4(3):177-84.
28. Chambers RA, Self DW. Motivational responses to natural and drug rewards in rats with neonatal ventral hippocampal lesions: an animal model of dual diagnosis schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2002 Dec;27(6):889-905.
29. Katona I, Sperlagh B, Sik A, Kafalvi A, Vizi ES, Mackie K, et al. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci.* 1999 Jun 1;19(11):4544-58.
30. Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev.* 2003 Jul;83(3):1017-66.
31. Meschler JP, Conley TJ, Howlett AC. Cannabinoid and dopamine interaction in rodent brain: effects on locomotor activity. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000 Nov;67(3):567-73.
32. Marcellino D, Carriba P, Filip M, Borgkvist A, Frankowska M, Bellido I, et al. Antagonistic cannabinoid CB1/dopamine D2 receptor interactions in striatal CB1/D2 heteromers. A combined neurochemical and behavioral analysis. *Neuropharmacology.* 2008 Apr;54(5):815-23.
33. Kearn CS, Blake-Palmer K, Daniel E, Mackie K, Glass M. Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? *Mol Pharmacol.* 2005 May;67(5):1697-704.

34. Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Piomelli D. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nat Neurosci*. 1999 Apr;2(4):358-63.
35. Laruelle M. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med*. 1998 Sep;42(3):211-21.
36. Guillin O, Abi-Dargham A, Laruelle M. Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int Rev Neurobiol*. 2007;78:1-39.
37. Hietala J, West C, Syvalahti E, Nagren K, Lehtikainen P, Sonninen P, et al. Striatal D2 dopamine receptor binding characteristics in vivo in patients with alcohol dependence. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994 Nov;116(3):285-90.
38. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Hitzemann R, Ding YS, et al. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res*. 1996 Dec;20(9):1594-8.
39. Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS, Logan J, Abumrad NN, Hitzemann RJ, et al. Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. 1997 Feb;16(2):174-82.
40. Ginovart N, Farde L, Halldin C, Swahn CG. Changes in striatal D2-receptor density following chronic treatment with amphetamine as assessed with PET in nonhuman primates. *Synapse*. 1999 Feb;31(2):154-62.

41. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Hitzemann R, Logan J, Schlyer DJ, et al. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse*. 1993 Jun;14(2):169-77.
42. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Ding YS, Sedler M, et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry*. 2001 Dec;158(12):2015-21.
43. Martinez D, Broft A, Foltin RW, Slifstein M, Hwang DR, Huang Y, et al. Cocaine dependence and d2 receptor availability in the functional subdivisions of the striatum: relationship with cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Jun;29(6):1190-202.
44. Lee B, London ED, Poldrack RA, Farahi J, Nacca A, Monterosso JR, et al. Striatal dopamine d2/d3 receptor availability is reduced in methamphetamine dependence and is linked to impulsivity. *J Neurosci*. 2009 Nov 25;29(47):14734-40.
45. Pistis M, Melis M. From surface to nuclear receptors: the endocannabinoid family extends its assets. *Curr Med Chem*. 2010;17(14):1450-67.
46. Melis M, Pillolla G, Luchicchi A, Muntoni AL, Yasar S, Goldberg SR, et al. Endogenous fatty acid ethanolamides suppress nicotine-induced activation of mesolimbic dopamine neurons through nuclear receptors. *J Neurosci*. 2008 Dec 17;28(51):13985-94.

47. Starowicz K, Nigam S, Di Marzo V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol Ther.* 2007 Apr;114(1):13-33.
48. Starowicz K, Cristino L, Di Marzo V. TRPV1 receptors in the central nervous system: potential for previously unforeseen therapeutic applications. *Curr Pharm Des.* 2008;14(1):42-54.
49. de Lago E, de Miguel R, Lastres-Becker I, Ramos JA, Fernandez-Ruiz J. Involvement of vanilloid-like receptors in the effects of anandamide on motor behavior and nigrostriatal dopaminergic activity: in vivo and in vitro evidence. *Brain Res.* 2004 May 8;1007(1-2):152-9.
50. Femenia T, Garcia-Gutierrez MS, Manzanares J. CB1 receptor blockade decreases ethanol intake and associated neurochemical changes in fawn-hooded rats. *Alcohol Clin Exp Res.* 2010 Jan;34(1):131-41.
51. Economidou D, Mattioli L, Cifani C, Perfumi M, Massi M, Cuomo V, et al. Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR-141716A on ethanol self-administration and ethanol-seeking behaviour in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2006 Jan;183(4):394-403.
52. Yu LL, Zhou SJ, Wang XY, Liu JF, Xue YX, Jiang W, et al. Effects of cannabinoid CB receptor antagonist rimonabant on acquisition and reinstatement of psychostimulant reward memory in mice. *Behav Brain Res.* 2011 Feb 2;217(1):111-6.
53. Stopponi S, Somaini L, Cippitelli A, Cannella N, Braconi S, Kallupi M, et al. Activation of nuclear PPARgamma receptors by the antidiabetic agent

- pioglitazone suppresses alcohol drinking and relapse to alcohol seeking. *Biol Psychiatry*. 2011 Apr 1;69(7):642-9.
54. Adamczyk P, McCreary AC, Przegalinski E, Mierzejewski P, Bienkowski P, Filip M. The effects of fatty acid amide hydrolase inhibitors on maintenance of cocaine and food self-administration and on reinstatement of cocaine-seeking and food-taking behavior in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2009 Sep;60(3):119-25.
55. Vlachou S, Stamatopoulou F, Nomikos GG, Panagis G. Enhancement of endocannabinoid neurotransmission through CB1 cannabinoid receptors counteracts the reinforcing and psychostimulant effects of cocaine. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008 Nov;11(7):905-23.
56. Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev*. 2006 Sep;58(3):389-462.
57. Matias I, Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab*. 2007 Jan-Feb;18(1):27-37.
58. Hiley CR. Endocannabinoids and the heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009 Apr;53(4):267-76.
59. Hohmann AG, Suplita RL, 2nd. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *AAPS J*. 2006;8(4):E693-708.

Table 1: Anandamide and OEA at baseline according to schizophrenia or substance use disorder compared to healthy controls.

Variable	Healthy controls (HC) (n=27)	Schizophrenia (SCZ) patients (n=25)	SUD patients (n=38)	Statistics	Multiple comparison*
Anandamide (ng/ml)	1.1 (0.4)	1.1 (0.2) **	0.7 (0.2)	F = 24.3 ; p=0.0001	SUD < HC & SCZ
Oleylethanolamide (ng/ml)	1.6 (0.7)	1.3 (0.4) **	1.0 (0.5)	F = 11.2 ; p=0.0001	SUD < HC

HC= healthy controls; SCZ= schizophrenia; SUD= substance use disorders; * After Bonferoni correction; ** n=21

Table 2: Changes in plasma endocannabinoid levels during quetiapine treatment

Variable	Baseline	LOCF data	Statistics
Non-abusing schizophrenia patients *			
Anandamide (ng/ml)	1.1 (0.3)	1.0 (0.3)	F=0.7; p=0.415
Oleylethanolamide (ng/ml)	1.3 (0.4)	1.3 (0.3)	F=0.2; p=0.635
Non-psychosis patients with substance use disorders **			
Anandamide (ng/ml)	0.7 (0.2)	0.7 (0.3)	F=0.3; p=0.599
Oleylethanolamide (ng/ml)	1.0 (0.5)	1.1 (0.6)	F= 0.5; p=0.508

LOCF= last-observation-carried-forward; * n=15; ** n=24

4. Méthodologie

La compréhension pathogénique de la schizophrénie fait appel à différentes théories neurochimiques suivant les perspectives dégénératives, développementales et de déconnexion des circuits de neurotransmission, tel que décrit dans l'introduction. Nous avons ici opté pour une perspective ciblant plus particulièrement un système de neuromodulation, dont les ligands sont de nature lipidique et pouvant interférer avec la neurotransmission dans cette maladie. Nous avons présenté dans ce mémoire une recherche clinique qui avait pour objectif de mesurer les endocannabinoïdes plasmatiques chez des individus souffrant de schizophrénie et/ou de dépendance aux drogues. Dans cette section, nous observerons d'abord la méthode de laboratoire puis les biais potentiels sur les valeurs plasmatiques.

4.1.1 La méthode en laboratoire

Le système endocannabinoïde peut être évalué de différentes façons. Par exemple, il peut être étudié par imagerie pour évaluer la densité des récepteurs ou par analyses biochimiques pour les ligands endogènes. Ces derniers peuvent se quantifier dans divers substrats biologiques à l'aide notamment d'une extraction lipidique et une purification, puis une analyse par chromatographie liquidienne ou gazeuse combinée à la spectrométrie de masse⁷⁵. En recherche clinique en psychiatrie, le liquide céphalo-rachidien (LCR) et le plasma permettent de recueillir des données fort utiles. Des radiotraceurs sont aussi utilisés *in vivo* et permettent des études d'imagerie des

récepteurs CB1 dans le cerveau⁷⁶. La microdialyse cérébrale permet elle aussi de faire des échantillonnages neurochimiques, utilisant le transfert passif à travers une membrane de dialyse, comme celui qui se produit aux travers des vaisseaux capillaires⁷⁷.

Au plan méthodologique, la quantification des endocannabinoïdes plasmatiques nécessite une technique de laboratoire complexe. En effet, en raison de l'état lipophile et hydrophobe de ces molécules, l'extraction est précaire et nécessite des manipulations rigoureuses. Un élément à considérer dans notre analyse des biais est celui du temps écoulé entre le prélèvement sanguin et le moment de l'analyse (plusieurs mois), car ces molécules ne sont pas particulièrement stables. L'anandamide (AEA) et l'oléylethanolamide (OEA) ont été les principales substances endocannabinoïdes mesurées dans l'étude présentée dans ce mémoire, contrairement au 2-arachidonoylglycerol (2-AG) et palmitylethanolamide (PEA) qui nécessitaient une méthode différente. La technique d'extraction et le protocole ont été élaborés par Karine Venne au laboratoire de chimie de l'Université de Montréal, sous la direction de Dre Alexandra Furtos. L'extraction du plasma des composés d'intérêt, AEA et OEA, s'est effectuée en utilisant des phases solides à l'aide de cartouches avec centrifugeuses. La centrifugation a été faite à 15 000 g à 4°C durant 5 minutes. Cette méthode avait un taux de recouvrement entre 59.4 et 90.4% et une déviation relative entre 7.1 et 12.5%, considérés dans les normes standards pour des analyses biologiques. Pour l'étape suivante, la chromatographie consistait à séparer des analytes par rapport aux composés présents dans la matrice. Les colonnes permettant la séparation des composés ont été

préalablement testées. Des pics fins ont permis une plus grande sensibilité puisque nous supposons des valeurs près de la limite de quantification. Ces techniques offrent une bonne sensibilité grâce aux petites colonnes et un haut degré de sélectivité résultant de la combinaison de la chromatographie et de la séparation des composés. La méthode développée est ainsi relativement rapide et fiable.

D'autre part, les valeurs des concentrations cannabinoïdes obtenues par les études récentes effectuées au laboratoire de chimie de l'Université de Montréal étaient plus basses que celles obtenues au laboratoire de Piomelli en Californie, lors de la première étude chez les patients avec double diagnostic⁷⁸. Avant de développer ultérieurement sur les biais possibles, nous pouvons supposer des différences préalables dans la méthodologie. En effet, les deux approches utilisaient deux instrumentations différentes, et ce, aux deux étapes importantes, soit la spectrométrie de masse et la chromatographie. Au laboratoire dirigé par Dre Furtos, le spectromètre de masse était de type triple quadripôle, reconnu pour sa sélectivité⁷⁹. Il peut ainsi distinguer des isomères, analytes ayant le même poids moléculaire, qui fragmentent de façon différente. Cela n'est pas possible avec des appareils à simple quadripôle utilisés au laboratoire partenaire en Californie. D'autre part, la colonne chromatographique (Kinetex) utilisée par les chimistes à l'Université de Montréal fait partie d'une nouvelle génération de phases stationnaires très performantes et offre une résolution chromatographique particulièrement élevée. Cette configuration combinée avec une optimisation de

méthode bien élaborée a permis de diminuer grandement la contribution des espèces interférentes très semblables aux espèces ciblées présentes dans le plasma.

4.1.2. Biais des valeurs périphériques

Pour des raisons éthiques et méthodologiques, nous avons opté pour le prélèvement des endocannabinoïdes en périphérie tout en reconnaissant les biais possibles de valeurs plasmatiques. Il est certain que les concentrations endocannabinoïdes retrouvées en périphérie ne reflètent pas de façon linéaire les valeurs centrales. Une étude a d'ailleurs précisément reflété cette différence entre les valeurs plasmatiques et centrales dans un contexte clinique de schizophrénie⁸⁰. De la même façon pour plusieurs neurotransmetteurs et neuromodulateurs, les valeurs dans le LCR ne sont pas directement associées aux valeurs périphériques et il pourrait être parfois plus avantageux et fiable de mesurer plutôt les métabolites.

De plus, connaissant l'implication des endocannabinoïdes dans de nombreux systèmes centraux et périphériques, plusieurs biais ont pu modifier nos résultats. L'influence peut être multiple selon différents phénomènes cliniques. Pensons notamment aux fonctions neuroendocriniennes des ECB qui permettent un pont entre différents systèmes et plusieurs états, stades ou mécanismes et qui peuvent influencer leurs valeurs. Et donc, nombreux sont les phénomènes physiologiques et pathologiques pouvant modifier les valeurs plasmatiques et ne pouvant être complètement contrôlés dans une étude clinique.

Effectivement, les ECB sont impliqués dans divers systèmes; cardiovasculaires, gastro-intestinal, reproducteur, neurologique, hématologique, immunitaire; pour n'en nommer que quelques-uns ⁸¹. Ils sont aussi impliqués dans la réponse au stress physique et psychosocial ⁸² et sont également au coeur des phénomènes de douleur ⁸³.

Certes, une des principales influences dans un contexte de trouble psychotique demeure la consommation de substances. Nous n'avons qu'à considérer l'influence soit du type de drogue, de la fréquence de consommation ou de la voie d'administration sur les endocannabinoïdes. La présence de la toxicomanie a été directement considérée à travers le choix des groupes de sujets, ce qui a permis de distinguer plus précisément les altérations attribuables soit à la consommation, soit à la schizophrénie. Nous devons nous rappeler que des antécédents de consommation, malgré une abstinence récente prolongée, peuvent avoir modifié la plasticité synaptique dans le groupe sans toxicomanie. Il s'agit notamment de phénomènes de métaplasticité, c'est-à-dire un changement dans la capacité à générer une plasticité synaptique. Cela fait suite à une première amorce qui altère la capacité subséquente d'induire la dépression ou potentialisation à long terme. La consommation chronique sert ainsi d'amorce à la perturbation de la plasticité synaptique^{84, 85}. Effectivement, la vulnérabilité à rechuter provient de neuroadaptations dans les circuits corticostriés où sont localisés les axones dopaminergiques. Cette vulnérabilité ancrée dans la neurotransmission est durable et la rechute peut survenir plusieurs années plus tard. La toxicomanie vient donc altérer nos

paradigmes de compréhension de la schizophrénie et nous en mesurerons l'impact plus en détails ultérieurement.

Par ailleurs, par leur nature lipophile, les endocannabinoïdes agissent comme des médiateurs autocrines et paracrines en périphérie. Dans nos résultats, il faut considérer leur production par les lymphocytes et monocytes⁸⁶. Nous pouvons ainsi entrevoir leur variation plasmatique comme tributaire de nombreux phénomènes inflammatoires et immunologiques. Par exemple, des élévations de l'hormone leptine diminuent la synthèse d'endocannabinoïdes en phase psychotique aiguë. Cependant, alors que dans une autre étude avec olanzapine⁸⁷, l'abaissement de leptine a restauré les niveaux de ECB, dans notre étude, la quetiapine n'a pas modifié les valeurs. Ainsi, soit la quetiapine n'a pas les mêmes effets sur la leptine, soit elle ne modifie pas les endocannabinoïdes, soit les ECB sont des marqueurs liés à un trait et non à un état.

De la même façon, nous ne pouvons passer sous silence l'importance des ECB dans les phénomènes métaboliques. Ainsi, le lien entre les ECB et la prise de nourriture vient influencer étroitement ces substances endogènes⁸⁸. Les mesures plasmatiques des ECB sont notamment influencées par les autres lipides périphériques et soumises aux effets périphériques sur les récepteurs CB1, ceux-ci particulièrement retrouvés sur les adipocytes⁸⁹. Un contrôle des ponctions veineuses à jeun aurait notamment favorisé une meilleure fiabilité des résultats. Il pourrait être intéressant dans des analyses ultérieures de comparer les résultats aux valeurs du bilan lipidique standard (cholestérol total,

triglycérides, lipoprotéines de haute densité (HDL) et de basse densité (LDL)) et aux hormones métaboliques telles que la ghreline, la leptine et l'insuline. Nous savons effectivement que l'insuline est un modulateur négatif des endocannabinoïdes⁹⁰⁻⁹² tout comme la leptine⁹³. Les paramètres métaboliques tels que le poids sont aussi à considérer comme facteurs modifiant les cannabinoïdes endogènes. Dans des modèles multivariés, par exemple, l'anandamide périphérique était le seule ethanolamide associé de façon significative avec l'adiposité⁹⁴. Certaines valeurs périphériques et centrales peuvent aussi varier selon la race et la dépense énergétique. Il faut donc considérer les valeurs plasmatiques des ECB comme un reflet de la relâche de médiateurs lipidiques des organes périphériques. Ainsi, ils sont abaissés en postprandial ou suivant une surcharge glycémique avec hyperinsulinémie euglycémique chez des personnes plus minces alors qu'ils sont abaissés chez des sujets obèses avec résistance à l'insuline ou avec diabète de type 2^{90, 91, 95, 96}.

Par ailleurs, nous ne pouvons écarter les effets de certains autres mécanismes physiopathologiques. Effectivement, le cycle de régulation du sommeil, par exemple, vient influencer les valeurs des endocannabinoïdes. Une étude a démontré chez des sujets sains un rythme circadien des concentrations plasmatiques d'anandamide. Ainsi, les valeurs sont trois fois plus élevées au réveil qu'au coucher et la privation de sommeil vient perturber cette relation⁹⁷. De plus, les sujets de notre étude, des personnes atteintes de schizophrénie et/ou des toxicomanes, ont souvent un cycle de sommeil perturbé, que ce soit par désorganisation des habitudes de vie, par isolement social et dérèglement

d'un horaire de vie ou par la perturbation du sommeil liée aux troubles perceptuels, aux délires ou à la décharge adrénergique de la consommation. Une élévation plasmatique de OEA serait aussi présente chez des sujets avec une apnée du sommeil de façon significative par rapport aux autres endocannabinoïdes et aux contrôles⁹⁸. Donc, autant chez les sujets sains que chez les sujets atteints, il serait préférable de relever l'heure de la prise de sang en lien avec le cycle de sommeil et d'éveil et de recueillir les informations concernant l'hygiène de sommeil.

En outre, plusieurs médicaments peuvent influencer les valeurs plasmatiques tels que les psychotropes, les analgésiques ou ceux pour la santé cardiovasculaire. Les médicaments psychotropes sur ordonnance ont été recensés dans l'étude. Les antipsychotiques semblent entraîner des modifications des récepteurs CB1 chez les animaux alors que cela n'a pas été reproduit chez l'humain ⁹⁹. Certains antidépresseurs, tel que la fluoxétine, peuvent aussi influencer la densité des récepteurs CB1 chez l'animal sans modifier les ligands¹⁰⁰. Étant donné que le système endocannabinoïde est impliqué dans la locomotion et interconnecté avec le système cholinergique, nous pouvons fortement suspecter une influence des médicaments anticholinergiques pris de façon répandue par les patients pour contrôler les symptômes extra-pyramidaux. Les hypolipémiants prescrits pour abaisser l'hypercholestérolémie et l'hypertriglycémie et les antidiabétiques agissent sur les mêmes systèmes endogènes et sont souvent prescrits chez les patients schizophrènes. Il est nécessaire de se rappeler que certains médicaments en vente libre peuvent aussi avoir un impact sur les ECB, notamment des

analgésiques couramment consommés. Effectivement, les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) inhibent l'hydrolase d'acides gras aminés (FAAH) (ex: ibuprofen, indomethacin) et inhibent le transport d'endocannabinoïdes (ex: acétaminophène). Il faut se rappeler que les AINS de type inhibiteurs de cyclooxygénase 2 (COX 2) peuvent influencer le système cannabinoïde étant donné la cascade de dégradation de AEA et 2-AG impliquant fort possiblement COX2. Des variations dans les résultats plasmatiques des ECB sont soupçonnées en lien avec des mécanismes pharmacocinétiques selon la dose et la voie d'administration des médicaments¹⁰¹. De plus, il ne faut pas négliger le fait que l'anandamide est non seulement métabolisé par FAAH, COX-2 et des lipoxygénases, mais il est aussi un substrat du cytochrome P450 2D6^{102, 103}. Ainsi, des interactions médicamenteuses par la compétition avec des substrats d'affinité différente ou par l'effet de molécules inhibitrices du CYP 2D6 peuvent survenir.

Par ailleurs, il faut considérer plus particulièrement les différents symptômes psychiatriques rencontrés dans les tableaux cliniques et pouvant interférer avec les valeurs. En effet, particulièrement dans la schizophrénie, les corrélations des endocannabinoïdes avec les déficits cognitifs ou avec l'intensité et la prépondérance des symptômes positifs par rapport aux symptômes négatifs sont autant de facteurs à noter. De plus, l'hétérogénéité phénotypique, biologique et étiologique de la schizophrénie peut avoir une influence. Les sous-types cliniques, et donc la différence phénotypique, peuvent être attribuables aux différences individuelles génétiques et pathophysiologiques qui peuvent altérer les résultats¹⁰⁴. Il faut aussi noter la présence

des différentes comorbidités psychiatriques telles que la dépression et l'anxiété. Dans notre étude, des échelles de dépression et des mesures cognitives ont été utilisées. Des perturbations des valeurs endocannabinoïdes peuvent se retrouver particulièrement dans les conditions physiologiques et pathologiques associées aux émotions et à la cognition¹⁰⁵. Certes, le système endocannabinoïde ne peut donc être considéré dans la schizophrénie sans l'influence des circuits de neurotransmission, ce qui sera revisité dans la prochaine section.

5. Discussion: synthèse et intégration

Nous rapporterons dans cette partie les plus récents développements concernant le système ECB. Une fois ce tour d'horizon complété, nous pourrons recentrer l'analyse sur les ECB et leurs implications dans la récompense, dans le métabolisme et dans les symptômes psychotiques. Puis, nous dresserons un portrait intégratif de la schizophrénie en tenant compte de nos résultats et en le mettant en relief avec les théories neurochimiques. Pour finir, nous exposerons des perspectives cliniques et de recherche concernant les phénomènes physiopathologiques et les approches thérapeutiques, permettant de conclure sur des avenues fort intéressantes dans la schizophrénie et la toxicomanie.

5.1 Synthèse du système endocannabinoïde et principales implications

Dans cette partie du mémoire, nous dresserons un portrait synthétique du système endocannabinoïde et ses plus récentes implications dans la schizophrénie, en ajoutant l'éclairage des dernières connaissances dans la littérature. Nous porterons ici une attention plus particulière aux interactions d'abord entre les acteurs du système endocannabinoïde, puis entre ce système et les autres voies de neurotransmission. Cela étayera plus finement nos interprétations intégratives ultérieurement. Puis, nous détaillerons de façon plus spécifique le système ECB avec les nouvelles avancées en recherche en considérant particulièrement la toxicomanie et les problèmes métaboliques, manifestations comorbides dans la schizophrénie.

Nous jetterons ici un regard sur les différentes composantes du système endocannabinoïde et leur métabolisme puis nous remarquerons quelques mécanismes moléculaires pertinents à cette analyse. Nous observerons ensuite l'impact de la neuromodulation endocannabinoïde sur les circuits de transmission qui sont d'intérêt dans la schizophrénie.

5.1.1 Système endocannabinoïde: acteurs et communication synaptique

Le système endocannabinoïde tel qu'on le connaît actuellement et tel que décrit dans le premier article comprend des ligands et des récepteurs. Nous connaissons davantage

l'utilité des principaux ligands, anandamide et 2-AG, et des récepteurs CB1 dans le SNC, mais la recherche fondamentale et clinique dans ce domaine est en continuel développement. En plus des récepteurs CB1 et CB2, de nouveaux récepteurs cannabinoïdes de type protéine G ont été proposés, soit GPR55 et GPR119¹⁰⁶. De plus en plus, l'étude des autres ligands et récepteurs s'étend pour étayer la compréhension du système dans son ensemble et les interactions à l'intérieur même de ce système. Cela s'ajoute ensuite à une perspective plus globale qui intègre les interactions avec les autres systèmes de neurotransmission tel que décrit dans l'article de revue.

Les récepteurs CB1 sont bien répandus dans le SNC, non seulement sur les neurones mais également sur les astrocytes ¹⁰⁷, la microglie ¹⁰⁸ et les oligodendrocytes ¹⁰⁹⁻¹¹². Cela peut conférer certains rôles tels que des modifications de processus inflammatoires. Par ailleurs, les récepteurs CB2 sont de plus en plus étudiés dans le SNC mais laissent encore beaucoup d'incertitudes concernant leur mode d'expression. En effet, ils ont été identifiés à de hauts niveaux dans les tissus immunitaires périphériques ^{113, 114}. Les récepteurs CB2 ont d'abord été reliés à des conditions pathologiques dans le cerveau puis ont été identifiés dans le cervelet et le tronc cérébral dans des conditions physiologiques¹¹⁵. Des recherches supplémentaires sont encore nécessaires pour améliorer la description de l'expression génique et protéique des récepteurs CB2 ainsi que de leurs rôles dans les régions corticales et sous-corticales.

Les endocannabinoïdes sont des lipides et leurs différentes interactions dépendent notamment de cette nature moléculaire. Une fois modifiés à l'aide d'enzymes, ils forment une famille de signaux paracrines, dénommés eicosanoïdes¹¹⁶. Les endocannabinoïdes sont des messagers dits transcellulaires par rapport à l'acide arachidonique, par exemple, qui est un messager intra-cellulaire⁷³. L'hydrolyse de l'anandamide produit de l'acide arachidonique et de l'éthanolamine. Plusieurs signaux physiologiques comme les neurotransmetteurs, l'activité électrique et les facteurs de croissance peuvent activer des enzymes modifiant les précurseurs de lipides dans les membranes et peuvent stimuler la formation de messagers lipidiques. Parmi les lipides neuronaux, il y a certes des acides gras tels que l'oléylethanolamine et l'anandamide, mais également des lipides prénoyl incluant plusieurs substances mieux connues dans l'inflammation comme les leukotriènes et les prostaglandines. Il y a aussi les glycérophospholipides et les lipides stérols, comme le cortisol, la testostérone, la progestérone, l'estradiol.

L'anandamide et les acylethanolamides (NAEs), sont des molécules présentes de façon physiologique dans plusieurs tissus tels que le sang et le cerveau. On leur confère des rôles neuroprotecteurs et anti-inflammatoires. Les ECB sont synthétisés par le clivage des précurseurs de phospholipides dans les membranes, en réponse à différents stimuli physiologiques ou pathologiques. La dégradation de l'anandamide dépend ensuite de FAAH alors que 2-AG est inactivé principalement par l'enzyme monoacylglycerol lipase (MGL)¹¹⁷⁻¹²¹. L'OEA dépend également de FAAH pour sa dégradation¹¹⁷. L'anandamide, OEA et PEA activent les PPARs, récepteurs liés à différentes réponses

telles que la régulation de l'appétit, la perte de poids, la lipolyse, l'analgésie les réponses anti-inflammatoires. La synthèse des OEA et PEA se fait également sur demande mais de façon indépendante de l'anandamide et 2-AG ^{122, 123}. OEA et PEA ont des effets centraux encore peu étudiés. Ils sont agonistes de PPAR- α ¹²⁴. Les récepteurs PPAR sont largement distribués dans le SNC¹²⁵; alors que PPAR α et PPAR γ sont exprimés dans les régions plus circonscrites, le sous-type PPAR δ est le plus étendu et prédominant. Les récepteurs PPAR- δ se retrouvent dans tous les types de cellules incluant les astrocytes, les cellules endothéliales, la microglie, les neurones et les oligodendrocytes et on leur confère notamment un rôle neuroprotecteur et anti-inflammatoire¹²⁶.

Par ailleurs, il y a particulièrement des données probantes qui soulèvent une communication entre le système ECB et les PPAR δ ¹²⁷, sans en déterminer l'implication physiologique. Une interférence de l'ARN rendant inactif PPAR augmente l'expression des CB1R et, à l'inverse, la surexpression de PPAR δ diminue significativement l'expression de CB1R.

Tout comme les PPARs, les récepteurs TRPV1 sont d'excellents candidats à la liaison aux ligands ECB. Nous les retrouvons dans plusieurs régions cérébrales incluant les neurones dopaminergiques de la substance noire, les neurones pyramidaux de l'hippocampe, les neurones hypothalamiques, le locus ceruleus dans le tronc cérébral et dans plusieurs couches du cortex ^{128, 129}. Ils semblent impliqués dans la modulation de la plasticité synaptique. Il y a aussi une communication croisée entre les récepteurs CB1 et TRPV1¹³⁰⁻¹³². En effet, la stimulation de CB1 modifie l'état fonctionnel de TRPV1 à

travers des modifications de l'état de phosphorylation. Les interactions entre les récepteurs et les ligands à l'intérieur même du système ECB nous apparaissent essentielles à la compréhension du fonctionnement global de ce système. Les ligands et récepteurs du système ECB sont inclus dans le tableau I.

Tableau I: Le système endocannabinoïde: ligands et récepteurs

Ligands	Récepteurs
Anandamide	CB1
2-AG	CB2
OEA	PPAR
PEA	TRPV1
NADA	GPR55
Autres: virodhamine, noladin ether	GPR119

Légende: AEA : anandamide; 2-AG: 2-arachydonoylglycerol; OEA: oleylethanolamide, PEA: palmithylethanolamide, NADA: N-arachidonoyldopamine, virodhamine: O-arachidonoylethanolamine, CB1: cannabinoïde type 1; CB2: cannabinoïde type 2; PPAR: récepteur activé par les proliférateurs de peroxisome; TRPV1: récepteur à potentiel transitoire de type vanilloïde; GPR55: récepteurs protéine G 55, GPR119: récepteurs protéine G 119.

Par ailleurs, nous pouvons observer certains aspects moléculaires des endocannabinoïdes qui sont relâchés sur demande. De façon analytique, nous pouvons remarquer que la transmission synaptique dépend d'un ensemble de facteurs pouvant provenir des acteurs péri-synaptiques mais également des acteurs intra-membranaires et intra-cellulaires. La cotransmission antérograde, c'est-à-dire l'influence de plusieurs molécules sur le neurone post-synaptique, est répandue, tout comme la signalisation rétrograde, pour équilibrer et moduler la transmission^{133, 134, 135, 136, 137}. Les ligands

endocannabinoïdes agissent de façon rétrograde dans les synapses à titre de précurseurs de lipides tout comme le font d'autres types de molécules tels les acides aminés et les neuropeptides¹³⁸. Ils régulent ainsi la force des afférences aux neurones post-synaptiques. Ainsi, il semble que plusieurs signaux rétrogrades peuvent survenir d'un même neurone post-synaptique ^{139, 140 141, 142}. Il est d'intérêt de considérer les conditions menant à la libération d'un ou l'autre de ses signaux rétrogrades et l'interaction dynamique entre ces signaux. La relâche d'endocannabinoïdes réduit la relâche de glutamate du neurone pré-synaptique ce qui diminue l'activation des récepteurs métabotropiques à glutamate postsynaptiques et inhibe, par exemple, la relâche subséquente de dynorphine ¹⁴³. Une inhibition de la relâche d'endocannabinoïdes permet la relâche de dynorphine qui se lie aux récepteurs k-opioïdes et entraîne la dépression à long terme induite par le glutamate. Ces interactions indirectes confèrent un rôle de double régulation antérograde et rétrograde aux endocannabinoïdes aux synapses glutamatergiques dans certaines régions, ce qui contrôle la durée et l'amplitude de la force de la dépression présynaptique. De plus, il ne semble pas y avoir de communication croisée entre les récepteurs présynaptiques opioïdes et CB1 alors que les premiers réagissent à une inhibition directe des vésicules, les seconds réagissent à l'inhibition des canaux calciques voltage-dépendants ^{144, 145}. L'inhibition de la neurotransmission peut donc être cumulative et, ainsi, ce rôle n'est pas exclusif aux endocannabinoïdes, une information non négligeable.

De plus, nous remarquons aussi l'influence intra-cellulaire des cascades de signalisation déclenchées par l'activation de différents récepteurs. Cela peut ensuite influencer la

libération des différents agents modulateurs. Pour ne prendre qu'un exemple, les récepteurs CB1 et PPAR- α partagent des voies intracellulaires opposées ou synergiques telles que la modulation de protéines kinases ¹⁴⁶.

5.1.2 Système endocannabinoïde: neuromodulation

En outre, une fois les différents acteurs mieux identifiés, il importe de revisiter certaines interactions entre le système ECB et les circuits de neurotransmission à la base des phénomènes neuropsychiatriques. Certes, au niveau central, de nombreuses interactions surviennent entre le système endocannabinoïde et différents neurotransmetteurs, et ce, dans la majorité des régions. Par exemple, dans les noyaux gris centraux, il semble y avoir une grande interaction entre la dopamine et les ECB avec les récepteurs D2, CB1 et TRPV1 (récepteur à potentiel transitoire de type vanilloïde). Dans la schizophrénie, les interactions entre la DA et le système ECB dans les structures mésolimbiques apparaissent d'autant plus primordiales à élucider. Et, avec l'avènement de nouveaux paradigmes neurochimiques intégrant le glutamate, les ECB deviennent importants par leur implication dans la région du cortex préfrontal et leurs interactions glutamatergiques. Dans la schizophrénie, ce qui est particulièrement important est l'interaction entre le système endocannabinoïde et les systèmes glutamatergique et dopaminergique dans le cortex préfrontal et mésolimbique.

À la lumière des découvertes, les endocannabinoïdes interagissent avec le système dopaminergique de plusieurs façons ¹⁴⁷. D'abord, dans le cortex, les récepteurs CB1 sont exprimés en grande partie sur les terminaisons présynaptiques des interneurons GABAergiques¹⁴⁸. Il n'y a pas de preuves que les neurones dopaminergiques des noyaux gris centraux et des structures limbiques contiennent des récepteurs CB1. Ainsi, le système ECB agit à travers des actions indirectes, par les neurones GABA et glutamatergiques qui influencent ensuite la dopamine par les voies descendantes. De plus, bien que les neurones du mésencéphale ne contiennent pas de récepteurs CB1, ils produisent et relâchent des ligands endocannabinoïdes par leurs somas et dendrites, participant à la signalisation rétrograde dans des synapses inhibitrices ou excitatrices ¹⁴⁹. Certains endocannabinoïdes, tel que l'anandamide, activent aussi directement les récepteurs TRPV1 sur les neurones dopaminergiques dans les noyaux gris centraux ce qui permet une action directe des ECB sur le système DA¹²⁸. Cette action des ECB semble inhiber l'hyperactivité secondaire à l'excès de dopamine¹⁵⁰. L'anandamide semble aussi inhiber le transporteur de dopamine sans avoir recours à des récepteurs ¹⁵¹. Nous croyons ces mécanismes essentiels à la compréhension physiopathologique.

De plus, les endocannabinoïdes influencent l'expression des récepteurs D1 et D2 ce qui altère la modulation dopaminergique des courants excitateurs dans le striatum ¹⁵². Effectivement, la place des récepteurs cannabinoïdes dans les synapses est décrite de façon de plus en plus précise. Les récepteurs CB1 sont co-localisés avec les récepteurs D1 sur les voies de projections GABA striatonigrées et D2 sur les neurones GABA

striatopallidales¹⁵³. Cela ajoute une interaction post-synaptique et bidirectionnelle entre la DA et les ECB ^{154, 155}. Ainsi, l'activité des récepteurs et ligands endocannabinoïdes peut être à la fois à l'origine ou secondaire à l'activité dopaminergique et au contrôle des récepteurs D2.

Dans un même ordre d'idées, les récepteurs cannabinoïdes semblent avoir une localisation intra et extra-membranaire leur conférant des interactions particulières. Effectivement, il s'agit d'une communication intermoléculaire et plus précisément d'une interaction «récepteur-récepteur», propriété commune aux récepteurs de type protéines G hétéromères¹⁵⁶⁻¹⁶⁰. Un autre mécanisme propre aux hétéromères de récepteurs de protéines G est celui de permettre une variation du couplage au types de protéine G. En d'autres mots, la cascade de signalisation intracellulaire peut être influencée par cette communication entre récepteurs et ainsi avoir des effets opposés aux effets reconnus dans d'autres types de synapses ¹⁶¹. Dans des cellules artificielles, les récepteurs CB1 sont hétéromères avec D2, A2a de l'adénosine et mu ¹⁶². Dans de telles configurations hétéromères, la stimulation des récepteurs CB1 semble diminuer l'affinité de la dopamine pour les récepteurs D2 ¹⁶³, ce qui n'est pas négligeable dans des contextes de consommation et psychose. En effet, l'effet de récompense en toxicomanie et les symptômes psychotiques sont associés à l'action de la dopamine aux récepteurs D2. Les études au sujet des hétéromères CB1 et D2 soulèvent que l'activation simultanée des deux récepteurs entraîne des effets opposés à l'activation individuelle de l'un d'eux. Ces récepteurs hétéromères se trouvent dans des modules des épinés striées, au niveau post-

synaptique des neurones GABA enképhalinergiques et pré-synaptique dans les terminaisons GABA et glutamatergiques libérant des enképhalines et des dynorphines^{159, 164}. Cette hétéromérisation dans le striatum revêt un grand intérêt dans la psychose. Il y a des études qui se penchent sur ces *modules locaux* en tant qu'unités intégratives et indépendantes composées d'un ou plusieurs neurones et cellules gliales¹⁵⁷. Dans le striatum, ces modules confèrent aux ECB un rôle inhibiteur sur les neurones GABA et à glutamate par des moyens pré- et post-synaptiques. Ils permettent aussi le fin ajustement des récepteurs hétéromères.

Par ailleurs, *in vivo*, la dopamine module les comportements liés au cortex préfrontal et module l'activité neuronale à travers une facilitation de la dépression à long terme induite par les endocannabinoïdes, précisément aux synapses GABA du cortex préfrontal ¹⁶⁵.

En outre, nous pouvons aussi attribuer un rôle à la N-arachidonoyl-dopamine (NADA), une substance formée d'un dérivé de dopamine lié à l'acide arachidonique par un lien amine¹⁶⁶. Ces molécules ont des propriétés intéressantes en tant que ligands endocannabinoïdes et endovanilloïdes ^{130, 167} et soulèvent la possibilité de neuroprotection et d'anti-oxydation ¹⁶⁸. Les NADA auraient des propriétés de modulation synaptique sur les neurones dopaminergiques en ayant recours à des récepteurs CB et vanilloïdes ¹⁶⁹.

De plus, les récepteurs à glutamate NMDA seraient aussi munis d'un domaine de reconnaissance des lipides¹⁷⁰. Nous savons que les récepteurs NMDA sont modulés positivement par l'anandamide¹⁷¹. Les autres formes de canaux modulés par les neurotransmetteurs sont plutôt inhibés par les endocannabinoïdes, incluant les récepteurs à glycine¹⁷², les récepteurs GABA_A^{173,174}, les récepteurs $\alpha 7$ -nicotinique¹⁷⁵. De façon fort intéressante, les canaux calciques, potassiques et sodiques semblent directement modulés par les ECB¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. De plus, les récepteurs NMDA et mGluR5 sont impliqués dans une cascade menant à la dépression à long terme dans l'hippocampe et nécessitant les endocannabinoïdes¹⁷⁹. Comme les endocannabinoïdes sont des lipides, nous leur connaissons des capacités à influencer l'activité des canaux ioniques sensibles aux changements mécaniques, tels que la famille des TRAAK (*Twik 1-related arachidonic acid-stimulated K⁺*)¹⁸⁰. Ces canaux s'ouvrent à la pression mécanique et par des acides arachidoniques exogènes ou des acides gras insaturés. Un mécanisme similaire est actif pour les récepteurs TRPV1¹⁸¹ et NMDA^{182, 183}. Nous pouvons donc attester que les endocannabinoïdes interagissent étroitement avec le système glutamatergique et le récepteur NMDA.¹⁸⁴

De plus, la transmission cholinergique est aussi reliée au système ECB. Par exemple, il est possible d'attribuer à OEA et PEA la modulation endogène de la transmission de l'acétylcholine. En effet, l'agonisme des récepteurs muscariniques stimule la synthèse de OEA et PEA¹²², invitant à une interaction réciproque et utile entre les FAEs et l'ACh¹⁸⁵. Ce rôle peut s'avérer intéressant pour améliorer la compréhension des

symptômes cognitifs dans la schizophrénie et également celle des effets de la consommation de nicotine. En effet, ces phénomènes font en partie appel à l'acétylcholine.

Par ailleurs, la cartographie des récepteurs cannabinoïdes se raffine. Ces informations neuroanatomiques renforcent la compréhension de l'implication du système ECB dans différentes fonctions neuro-endocriniennes et métaboliques, lorsqu'il est question de l'hypothalamus, par exemple. En effet, dans certaines régions de l'hypothalamus, les récepteurs CB1 sont co-exprimés avec les marqueurs du glutamate et du GABA, dans des expériences d'hybridation *in situ*¹⁸⁶. La relâche de neurotransmetteurs est alors dépendante d'une signalisation rétrograde des ECB par des influences intra- et extra-hypothalamiques.

Ainsi, l'étroite intrication du système ECB avec les systèmes de neurotransmission permet certainement d'élaborer des modèles cannabinoïdes de la schizophrénie. Nous visiterons d'abord la littérature récente qui ajoute certaines perspectives à la revue de littérature présentée.

5.1.3 Système endocannabinoïde: modèles de schizophrénie

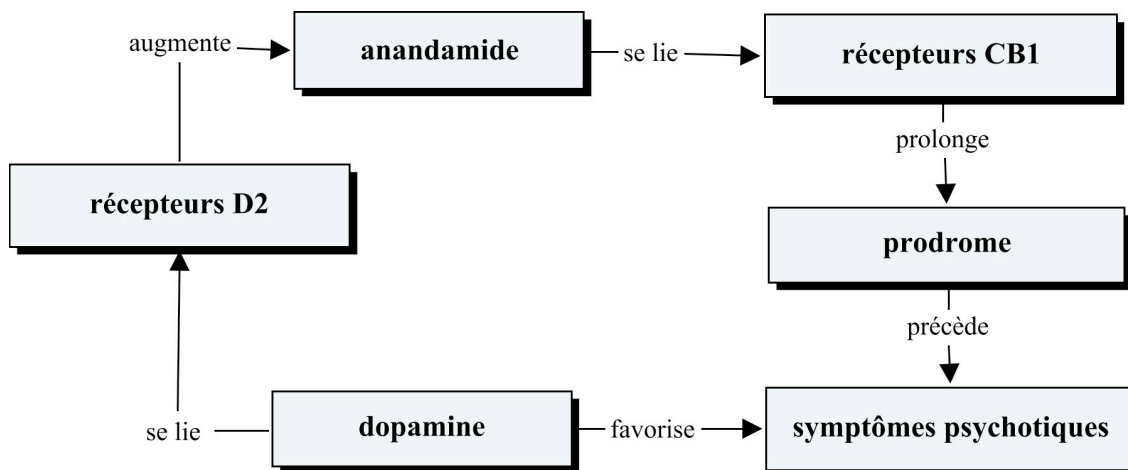
Les différents paradigmes de compréhension physiopathologique de la schizophrénie incluent une perspective dégénérative, développementale ou plus récemment une

perspective de déconnexion des circuits. Suivant les connaissances en schizophrénie, différents systèmes de neurotransmission sont altérés tels que ceux de la dopamine, du glutamate, du GABA, et possiblement de l'acétylcholine²⁹. Les hypothèses endocannabinoïdes de la schizophrénie soulèvent d'une part des altérations corticales et sous-corticales dans ce système de signalisation, comme une densité plus élevée des récepteurs CB1 ou des ligands ECB. D'autre part, les désordres cannabinoïdes peuvent être reliés à l'hyperactivité dopaminergique et l'hypoactivité glutamatergique, phénomènes décrits dans la schizophrénie.

Dans la littérature, un dysfonctionnement de l'anandamide dans la schizophrénie est notamment soulevé. En effet, l'anandamide est augmenté de façon significative dans le LCR chez les patients atteints spécifiquement de schizophrénie comparativement à des contrôles sains et des sujets atteints de dépression, maladie bipolaire, démence d'Alzheimer et démence vasculaire ⁸⁰. Il semble également que l'anandamide soit inversement corrélé avec les symptômes positifs. De plus, durant la période du prodrome, l'anandamide est élevé et cette élévation serait corrélée à un délai avant le déclenchement de la psychose ¹⁸⁷. Il semble ainsi y avoir un mécanisme protecteur en aigu. Le déclenchement de la psychose serait un échec des mécanismes compensatoires anandaminergiques. Cela permet d'élaborer un modèle adaptatif en lien avec les symptômes cliniques, tel que présenté à la figure 1.

Figure 1:

Modèle adaptatif: anandamide, dopamine et symptômes psychotiques

(adapté de Giuffrida, 2004)

Cependant, ce modèle ne considère pas l'ensemble des complexités du fonctionnement du système endocannabinoïde et ses interactions avec tous les circuits de neurotransmission impliqués dans les troubles psychotiques. Ainsi, nous revisiterons dans cette section les derniers développements concernant le système endocannabinoïde dans la schizophrénie. Cela permettra ensuite de les combiner aux théories neurochimiques qui prévalent en schizophrénie et d'étayer ultérieurement notre modèle endocannabinoïde de cette maladie.

Plusieurs études chez l'animal et l'humain révisent le système ECB et ses implications dans la schizophrénie¹⁸⁸. Tel que soulevé dans notre revue de littérature, une controverse demeure au sujet de la densité des récepteurs CB1, à savoir si l'expression des récepteurs CB1 est abaissée¹⁸⁹ ou augmentée¹⁹⁰ ou sans changement¹⁹¹ dans la schizophrénie. En effet, des données rapportent une diminution des récepteurs CB1 dans

le cortex préfrontal ¹⁹², mais la plupart de ces études n'ont pas considéré le traitement antipsychotique, un facteur confondant majeur pouvant diminuer l'expression de CB1R dans le cortex préfrontal chez des patients schizophrènes préalablement naïfs à la médication¹⁹³. Chez l'animal, les analyses de l'expression des récepteurs ont effectivement apporté des résultats contradictoires et contenaient des biais méthodologiques. Par exemple, les altérations de l'expression des récepteurs peuvent dépendre de facteurs méthodologiques, notamment du type de modèle animal de schizophrénie (ex: l'isolation sociale, la privation maternelle ou l'utilisation du PCP) ou de la technique d'immunochimie par rapport à des mesures de liaisons de récepteurs. Les résultats dépendent également de la région concernée.

En plus de l'étude *in vivo* de Wong et ses collègues ¹⁹⁴, une seconde étude *in vivo* chez des patients schizophrènes a été effectuée ¹⁹⁵. Elle a démontré une élévation significative de la disponibilité de CB1R dans les circuits mésolimbiques, particulièrement le nucleus accumbens. Dans l'insula, la liaison aux CB1R était positivement associée aux critères de désorganisation conceptuelle dans l'échelle de symptômes positifs et négatifs (PANSS), alors que dans l'hippocampe, l'amygdale et le putamen cette liaison aux CB1R était négativement corrélée à la vitesse psychomotrice et à l'attention¹⁹⁵. De plus, une étude récente a démontré une augmentation significative de 22% des récepteurs CB1R dans le cortex préfrontal dorsolatéral dans un sous-groupe de patients souffrant de schizophrénie de type paranoïde comparativement aux contrôles et à d'autres sous-types de la maladie¹⁹⁶. Il est possible que les manifestations du type paranoïde dans la

schizophrénie surviennent chez des individus avec une altération des récepteurs CB1. Certes, aucune de ces études ne permet de déterminer si les perturbations du récepteur CB1 sont un marqueur de l'état psychotique ou un facteur de vulnérabilité.

Certes, d'autres études viennent appuyer les théories neurodéveloppementales de la schizophrénie supportant des changements dans le développement du cerveau et la plasticité^{197, 198}. Le modèle de privation maternelle en permet notamment l'étude. Les animaux à l'âge adulte présentent des anomalies comportementales s'apparentant à la psychose et incluant des altérations cognitives^{199,200,201,202}. Chez ces animaux, une diminution significative et persistante des récepteurs CB1 a été notée²⁰³. Certains résultats contradictoires ont été retrouvés aussi avec le modèle d'élevage des rats en isolement²⁰⁴. Les durées de protocole de l'isolement et les différentes techniques pour mesurer la densité des récepteurs peuvent entraîner des discordances. Les rats avaient des difficultés cognitives telles que la mémoire de reconnaissance et une diminution de la réponse au PPI (réponse inhibitrice), de l'agitation et de l'agressivité^{205, 206}. Ces rats avaient parfois une diminution²⁰⁷ ou une augmentation²⁰⁵ de l'expression des récepteurs CB1 dans le noyau caudé, putamen et amygdale. L'augmentation des CB1R était notable dans le cortex préfrontal, les noyaux thalamiques et l'aire postérieure de l'hypothalamus²⁰⁸. Dans une autre étude, il s'agissait plutôt d'une diminution de la fonction des récepteurs CB1 dans le cortex préfrontal, noyau accumbens, caudé-putamen, hippocampe et aire tegmentaire ventrale²⁰⁶. Nous retiendrons somme toute une tendance à l'élévation *in vivo* des CB1R dans la schizophrénie. Il y a certainement une implication pour le système ECB dans les voies de neuromodulation des comportements

reliés à la psychose observables chez les animaux, mais elle est fortement influencée par des facteurs méthodologiques.

De plus, les récepteurs CB2 sont aussi étudiés dans la schizophrénie. Les modèles animaux d'invalidation génique sont utiles pour obtenir des rôles potentiels dans le neurodéveloppement de la schizophrénie. Nous savons que les CB2R stimulent la neurogénèse²⁰⁹⁻²¹¹. Des souris avec invalidation génique de CB2 ont eu une augmentation de l'expression des gènes de D2R et α -2cR dans le cortex préfrontal et le locus ceruleus et une diminution de l'expression génique de 5-HT2cR dans le raphe dorsal et 5-HT2a dans le cortex préfrontal. Les recherches plus récentes ont permis l'élaboration des connaissances au sujet des récepteurs CB2 dans la schizophrénie. L'invalidation de CB2R entraîne des altérations de l'activité motrice et des déficits cognitifs, tels que l'abaissement de la réponse inhibitrice (PPI), un marqueur biologique de la schizophrénie ²¹². De plus, la rémission clinique est accompagnée par une diminution significative de l'ARNm de CB2 dans les cellules mononucléaires périphériques ⁸⁰. Une diminution de la fonction de CB2R, liée à un polymorphisme Q63R, serait aussi associée à une susceptibilité à développer la schizophrénie ²¹³.

De plus, au plan symptomatique, les patients schizophrènes démontrent de l'agitation qui est étudiée à travers des tableaux d'hyperlocomotion chez l'animal. Les ECB ont un rôle hypokinétique, dépendant de la dose, en lien avec un abaissement de la dopamine²¹⁴. Cet effet semble dépendre des récepteurs CB1 puisque les effets hypokinétiques sont

résolus par des antagonistes CB1²¹⁵. Plusieurs études pharmacologiques avec les récepteurs CB1 ont démontré une modification notable des effets moteurs causés par des substances dopaminergiques. Nous pouvons soulever aussi un effet médié par l'activation des récepteurs TRPV1²¹⁶. Effectivement, les agonistes cannabinoïdes sont des agonistes complets de TRPV1 et leur effet hypokinétique semble dépendre davantage de leur capacité à lier TRPV1 que leur liaison à CB1²¹⁷. Cela fournit des perspectives cliniques potentielles pour l'agitation psychotique et pour les symptômes extra-pyramidaux. Certes, il faut prendre ces démonstrations avec prudence puisqu'il s'agit parfois d'études physiologiques ou, dans d'autres cas, d'études dans un contexte pathologique. En présence d'une pathologie, et d'autant plus si elle progresse, les effets neuromodulateurs peuvent être extrêmement variables. Ce sont donc des considérations à se rappeler devant l'analyse de valeurs des endocannabinoïdes ou des approches thérapeutiques ciblant le système endocannabinoïde.

Par ailleurs, le circuit GABA peut fournir un apport à la compréhension des interactions avec le système ECB et le développement de la schizophrénie. Ainsi, des altérations dans les neurones GABA peuvent contribuer aux perturbations dans le cortex préfrontal dorsolatéral dans la schizophrénie. Certes, l'atténuation dans cette maladie de l'expression de GAD67 (acide glutamique décarboxylase 67), une enzyme liée à la synthèse de GABA, est bien répandue²¹⁸. Particulièrement, il s'agit des neurones de type panier qui expriment à la fois les récepteurs CB1 et les neuropeptides cholécystokinine (CCK)²¹⁹⁻²²¹. Il y aurait une corrélation entre l'atténuation de l'ARNm de GAD67 et

celle de l'ARNm de CB1R dans le cortex préfrontal dorsolatéral de patients atteints de schizophrénie^{189, 192, 193}. L'activation de CB1R supprime la neurotransmission de GABA²²². Il pourrait s'agir ici d'une régulation négative de CB1R pour diminuer le blocage de la relâche de GABA sur les terminaisons combinant CB1R et CCK. Ainsi, dans ces neurones, il y aurait une augmentation de GABA pour balancer une synthèse déficitaire de GABA²²³. Il est ainsi possible de revisiter la compréhension des phénomènes sous-jacents à la schizophrénie en appuyant directement l'hypothèse hypoglutamatergique. Suite à une dysfonction dans le cortex préfrontal, l'élévation des récepteurs CB1 peut être un mécanisme de compensation dans le but de réduire les entrées inhibitrices de type GABA²²⁴ et ainsi tenter le maintien, voire l'amélioration, des fonctions cognitives. Malgré les phénomènes de compensation de la neurotransmission déficitaire du glutamate préfrontal par l'hypofonctionnement des récepteurs NMDA, les circuits corticolimbiques perdent leur frein naturel avec le déclenchement subséquent de la maladie et des symptômes positifs par un excès de DA dans le système limbique.

Dans un même ordre d'idées, les théories contemporaines mettent effectivement de l'avant un déficit de la transmission glutamatergique en préfrontal entraînant une déconnexion des principaux circuits⁷¹. Les endocannabinoïdes modulent particulièrement ce système excitateur. De plus, quelques données suggèrent à l'heure actuelle un rôle pour le groupe II des récepteurs mGlu dans la physiopathologie de la schizophrénie²²⁵ et aussi pour mGlu1- α ²²⁶. Nous savons que les ECB diffusent dans la fente synaptique de façon rétrograde pour contrôler la libération de glutamate,

notamment suite à l'activation des mGluR post-synaptiques ^{144, 227, 228}. Le ligand 2-AG est particulièrement relié à ce mécanisme rétrograde lié à l'activation des récepteurs mGlu type 1 ²²⁹. Les agonistes mGlu2/3 (LY354740, LY379268 et MSG0028) diminuent le glutamate dans la fente synaptique et parviennent à bloquer les comportements induits par le PCP chez les animaux ²³⁰, telle que l'hyperlocomotion, de façon comparable à la clozapine ²³¹. Dans un modèle animal de la schizophrénie utilisant la kétamine, l'inhibition des récepteurs CB1 dans le cerveau est associée à l'altération du potentiel évoqué négatif (*mismatch negativity*) ²³². Des altérations dans les niveaux d'endocannabinoïdes dans le cortex préfrontal, telle une augmentation des niveaux de 2-AG, ont été relevées dans un modèle de rats traités au PCP. Il semble y avoir une mauvaise adaptation du système ECB contributive aussi aux symptômes cognitifs dans la schizophrénie, dépendants du glutamate²³³.

Des études se sont penchées sur le rôle des récepteurs PPAR dans diverses conditions neuropsychiatriques. Suivant les théories inflammatoires dans la schizophrénie, nous supposons que cette famille de récepteurs serait candidate aux marqueurs biologiques. Une étude de population chinoise a démontré une association entre le gène du récepteur PPAR δ et la schizophrénie ²³⁴. Cependant, aucune association n'a été retrouvée entre le gène de PPAR- γ et la schizophrénie dans une population britannique²³⁵. Il faut de nouvelles études pour déterminer si ces altérations moléculaires sont à l'origine de la maladie ou sont tributaires, par exemple, des différents stades de cette condition.

Nous avons ainsi revisité les données récentes dans la littérature concernant le système ECB et ses systèmes connexes dans la schizophrénie. À la lumière de nos résultats cliniques, nous pourrions émettre de nouvelles hypothèses et nos propres modèles intégratifs. Cependant, il faut d'abord revisiter les comorbidités qui influencent grandement nos modèles de compréhension et nos résultats.

5.1.4 Système endocannabinoïde: récompense et consommation

Une réflexion s'impose au sujet de l'impact de la toxicomanie sur les voies neurobiologiques. Certainement, dans un contexte clinique, la consommation peut modifier les paradigmes de compréhension de la schizophrénie énoncés dans la section précédente, particulièrement en lien avec le système ECB. Des variations polymorphiques du gène du récepteur CB1 (CNR1) sont liées aux abus de multiples substances telles que l'héroïne, l'alcool, la cocaïne²³⁶⁻²³⁸. Récemment, d'autres polymorphismes ont été repérés au sujet des interactions entre le cannabis et la schizophrénie. Il semble que certains polymorphismes de CNR1, trois SNPs, aient été associés à des déficits du volume de la substance blanche et à des troubles cognitifs parmi des patients schizophrènes et suite à une consommation chronique de cannabis ²³⁹. Cela renforce les théories de la schizophrénie se basant sur l'interaction entre les gènes et l'environnement et suit la notion que la signalisation par le récepteur CB1 maintient l'intégrité neurale.

5.1.4.1 Dépendance et allostasie

D'abord, la dépendance est un état caractérisé par une compulsion à rechercher et à consommer une ou des drogues, une perte de contrôle à limiter l'apport de la substance malgré des conséquences négatives et la survenue d'émotions négatives en l'absence de drogues^{240, 241}. Certes, les mécanismes menant à la dépendance sont des phénomènes essentiels à élucider pour mieux les traiter en clinique. La dépendance requiert plusieurs sources de renforcement, des mécanismes neuroadaptatifs, des changements neurochimiques, une plasticité synaptique altérée menant à un dérèglement des systèmes de récompense cérébraux et entraînant des comportements compulsifs et une perte de contrôle^{242, 243}. Les processus adaptatifs dévient de l'homéostasie normale et entraînent un état allostatique²⁴⁴. L'allostasie dans le cas précis de la dépendance aux substances est le processus de maintien des fonctions de récompense nécessitant des changements dans les mécanismes de récompense cérébraux. L'état allostatique représente alors une déviation chronique du seuil de récompense de base, non seulement par des circuits de récompense déréglés, mais également par l'activation de réponses cérébrales et hormonales aux stress. Les manifestations comportementales impliqueraient ensuite la boucle cortico-striée-thalamique.

Toutes les drogues pouvant mener à la dépendance produisent des dérèglements neuronaux impliquant des voies neuroanatomiques et neurochimiques similaires^{245, 246}. Certainement, la neurotransmission dopaminergique est critique dans les voies de

renforcement de toutes les substances créant de la dépendance malgré des mécanismes très différents^{247, 248}. Cette augmentation de DA est moins prononcée pour l'alcool, la nicotine, les opioïdes par rapport à celle des psychostimulants. Les drogues semblent aussi interagir avec les autres systèmes de neurotransmission tels que 5-HT, glutamate, GABA et ACh²⁴⁹⁻²⁵¹.

5.1.4.2 Système de récompense et endocannabinoïdes

Depuis quelques années, les recherches fondamentales sur les animaux ont impliqué des messagers lipidiques dans la réponse à des stimuli procurant du plaisir, telle que la prise de nourriture et de drogues²⁵²⁻²⁵⁴ et dans la modulation subséquente de comportements associés²⁵⁵⁻²⁶⁰. Ainsi, le partage du système de récompense et des voies cérébrales de la motivation propose un pont neurobiologique par l'intermédiaire des ECB²⁶¹. Premièrement, la consommation implique des effets primaires de récompense par la relâche des ECB dans l'aire tegmentaire ventrale. Deuxièmement, la motivation à rechercher des drogues passe par un mécanisme indépendant de la DA et impliquant les ECB. Troisièmement, les ECB médient les effets de motivation secondaires à l'exposition à des stimuli ou aux drogues elles-mêmes et sous-jacents à la rechute d'un comportement de recherche de drogues. Les endocannabinoïdes participent finalement aux processus d'apprentissage liés au comportement de dépendance. En effet, ils médient la plasticité synaptique dans le système mésolimbique par la dépression à long terme soit sur les synapses excitatrices (glutamate) du noyau accumbens ²⁶² ou soit sur

les synapses inhibitrices (GABA) facilitant ensuite la potentialisation à long terme ²⁶³. On confère précisément un rôle aux CB1R du cortex préfrontal dans l'expérience hédonistique liée à la récompense et influençant par la suite la motivation à consommer²⁶⁴.

Certes, le système de récompense implique la DA et les endocannabinoïdes. Les projections glutamatergiques ou GABA au noyau accumbens, au cortex préfrontal et à l'aire tegmentaire ventrale contiennent des récepteurs CB1, contrairement aux neurones DA. Les cannabinoïdes influencent alors indirectement la dopamine. Il s'agit ici d'un contrôle pré-synaptique dans l'aire tegmentaire ventrale sur les projections Glu et GABA qui modulent la décharge dopaminergique^{265, 266}. Il semble aussi que le tonus endocannabinoïde facilite la relâche de dopamine, particulièrement dans un contexte de consommation ²⁶⁷. L'inhibition des récepteurs CB1 atténue cette libération de DA qui survient avec l'abus de drogues. Cependant, l'effet similaire produit par le FAAH qui inhibe la relâche de dopamine suite à une consommation de nicotine, vient soulever la pertinence de s'intéresser à d'autres récepteurs dans la toxicomanie tels que les PPAR α . Il semble effectivement que l'anandamide inhibe la DA mésolimbique dans la récompense aux drogues via PPAR¹⁸⁵. De plus, le FAAH augmente non seulement l'anandamide mais aussi l'OEA et le PEA qui n'ont pas d'effets répertoriés sur le récepteur CB1. Certainement, les drogues d'abus entraîne en aigu une élévation de la libération des endocannabinoïdes à partir des neurones dopaminergiques²⁶¹. Nous pouvons par la suite extrapoler l'activation par les ECB des récepteurs CB1 sur les

neurones glutamatergiques ce qui inhibe le glutamate. Ensuite, nous présupposons une diminution de l'action GABA entraînant l'augmentation de dopamine. Parallèlement, il est possible de considérer une élévation des ECB qui agissent sur les CB1R sur les neurones GABA, ce qui atténue le GABA et ensuite augmente la décharge de dopamine. Cette interaction GABA et ECB est utile à la compréhension de plusieurs formes de dépendances aux drogues et à la nourriture, toutes améliorées par un antagoniste CB1²⁶⁸.

5.1.4.2.1 Variations selon les étapes de consommation

Tout compte fait, les récepteurs endocannabinoïdes ont un rôle dans la consolidation des processus de dépendance à plusieurs drogues, dans la modulation des processus synaptiques, ce qui entretient un comportement de recherche de drogues et ce, de façon indépendante à la transmission dopaminergique.

Par ailleurs, il est à noter que l'ensemble des drogues de consommation n'auront pas le même effet sur le système endocannabinoïde et dopaminergique selon que la prise est chronique ou aiguë. En effet, la prise chronique de la majorité des drogues est associée à une désensibilisation des récepteurs dopaminergiques et à un état hypodopaminergique^{269,270, 271,272,273}. À l'inverse, suivant une consommation récente et aiguë, le système dopaminergique n'a pas de modifications qui se maintiennent dans le temps. Il faut considérer également que l'exposition chronique aux cannabinoïdes exogènes régule négativement les récepteurs CB1 chez les modèles animaux²⁷⁴ et

humains²⁷⁵. Nous pouvons donc supposer une hypoactivation du système ECB lors d'une prise chronique de drogues. Dans une autre étude¹⁹⁶, plus précisément chez des schizophrènes, l'exposition au cannabis ne semble pas avoir modifié la densité des récepteurs CB1 ou l'ARNm dans le cortex préfrontal dorsolatéral, ce qui a corroboré les conclusions de d'autres études^{189, 190}, et dans le gyrus temporal supérieur ²⁷⁶. Nous pourrions ici soulever l'influence de la vulnérabilité ou maladie psychotique sur l'effet de la consommation de cannabis sur les récepteurs CB1. De plus, il faut aussi considérer les moments de retrait, d'abstinence ou de rechute et la durée de ces périodes pour optimiser la compréhension des phénomènes neurobiologiques et changements structuraux moléculaires. Il faut également prendre en compte le moment de la dernière consommation et les antécédents de dépendance qui peuvent avoir modifié les récepteurs et les systèmes endogènes malgré la résolution de ces tableaux de dépendance au plan clinique.

Ainsi, nous devons considérer particulièrement les modifications du récepteur CB1 en regard du statut de consommation incluant l'intoxication aiguë, la chronicité, l'abstinence, le sevrage et les rechutes ainsi que les aspects comportementaux de la consommation. Les récepteurs CB1 sont davantage étudiés en toxicomanie et les recherches subséquentes intégreront probablement les autres récepteurs et ligands du système ECB. Par exemple, les récepteurs CB2 sont peu étudiés mais les études récentes soulèvent certains rôles associés aux comportements de consommation²⁷⁷⁻²⁸¹. Pour les récepteurs TRPV1, il y a peu d'études proportionnellement à celles concernant les

récepteurs CB1. Récemment, une étude chez la souris a démontré une augmentation significative de l'ARNm de TRPV1 spécifiquement dans les régions frontales mais pas dans le striatum ni dans l'hippocampe suite à une prise répétée de méthamphétamines²⁸². La localisation cérébrale des récepteurs TRPV1 suggère une implication dans la plasticité synaptique et dans la douleur. Des éléments de renforcement négatif incluant la douleur peuvent jouer un rôle, dans la dépendance à l'alcool et aux opiacés ^{283, 284}. Ainsi, les canaux TRPV servent de nocicepteurs et régulent indirectement la prise d'alcool par ce rôle de renforcement négatif. Plus directement, la délétion génique du canal TRP, *Trpm5*, a réduit la préférence et la prise d'alcool ²⁸⁵. La délétion de *Trpv1* a significativement augmenté la préférence et la consommation d'alcool alors qu'elle a réduit les effets sédatifs de l'alcool et la durée de rémission de l'intoxication aiguë^{286,287}. Nous pouvons souligner l'implication centrale et périphérique dans cette influence. Par exemple, la consommation plus élevée d'alcool chez des souris avec invalidation de *Trpv1* pourrait être due à l'atténuation des sensations de brûlure liées à la concentration d'éthanol qui à hautes doses activent TRPV1 ²⁸⁸. Il faut certes se rappeler que l'anandamide se lie aux récepteurs TRPV1 et la grande co-localisation de FAAH et TRPV1 dans le cerveau de souris renforce l'utilité de l'anandamide¹³⁰. Fait notable, les comportements liés à l'alcool sont similaires dans un contexte de délétion à TRPV1 et délétion de FAAH ²⁸⁹. Cette observation appuie la possibilité que la signalisation ECB par les récepteurs TRPV1 s'oppose aux effets des ECB médiés par les CB1R. L'anandamide agit simultanément sur CB1 et TRPV1 induisant des effets opposés. Ces actions excitatrices et inhibitrices de l'anandamide semblent dans certaines situations

agir exclusivement par l'un ou l'autre des récepteurs respectivement²⁹⁰. En ce qui concerne l'alcool, les voies par CB1 et TRPV1 ont des conséquences opposées ce qui entretient un état homéostatique. La consommation chronique et excessive entraîne des effets plus prononcés sur les ligands et récepteurs CB et nous pouvons soulever un balancement homéostatique entre ces deux voies de neurotransmission^{244, 291}. Les études supportent donc peu à peu un rôle potentiel pour TRPV1 dans le traitement des dépendances.

5.1.4.2.2 Rôle selon différentes substances

Par ailleurs, bien que le système endocannabinoïde joue un rôle dans tous les processus de récompense liés à différentes substances créant de la dépendance telles que la cocaïne, les opioïdes, la nicotine et l'alcool, en plus du cannabis^{261, 292, 293}, il y a certaines variations selon le type de substances utilisées. En effet, les ECB modulent les mécanismes moléculaires de récompense de façon différente selon la substance. Et les drogues modifient la transmission ECB différemment, selon des profils distincts des classes de drogues²⁹². Par exemple, alors que la prise chronique de nicotine et d'opioïdes augmente AEA et celle de l'alcool augmente 2-AG dans la région mésolimbique, la cocaïne réduit 2-AG. Le Δ^9 -THC, l'alcool, la nicotine, les opioïdes altèrent les ligands endocannabinoïdes et, selon les niveaux de CB1R, influencent ensuite les comportements. Des souris avec invalidation génique de CB1R semblent avoir permis de démontrer un rôle dans les effets neurochimiques et comportementaux liés à la

cocaïne²⁹⁴. La cocaïne à haute dose modifie plus légèrement les ECB et l'implication des récepteurs CB1 dans les comportements liés à la prise de cocaïne demeure controversée²⁹⁵.

5.1.4.2.2.1 Cannabis exogène

À la lumière de ces implications, nous pouvons reprendre comme point d'ancrage de la réflexion la grande prévalence en clinique de consommation de cannabis chez les psychotiques et la controverse par rapport aux liens sous-jacents. Le Δ^9 -THC permet un paradigme de compréhension. Nous proposons d'abord une analyse comparative de l'influence du cannabis exogène et endogène sur la DA. En effet, les symptômes psychotiques sont associés à une augmentation de la décharge de DA dans la région mésolimbique. Or, il semble que les endocannabinoïdes diminuent l'hyperactivité dopaminergique en phase aiguë de la psychose alors que les cannabinoïdes exogènes peuvent parfois précipiter des psychoses en augmentant ainsi la dopamine. Nous pouvons donc nous interroger à savoir comment deux molécules structurellement reliées entraînent des effets opposés.

D'abord, la récompense est dépendante de l'augmentation des ECB dans l'aire tegmentaire ventrale ce qui entraîne une augmentation de DA dans le noyau accumbens. Or, il y a des effets controversés des cannabinoïdes exogènes (Δ^9 -THC) à doses récréatives sur la décharge dopaminergique qui peut être augmentée ou sans changement

dans le striatum²⁹⁶⁻²⁹⁷. Nous supposons alors que l'augmentation de DA par le Δ^9 -THC dépend d'une vulnérabilité à la psychose, elle-même associée à une décharge dopaminergique. De plus, les niveaux des ligands endogènes cannabinoïdes sont altérés de différentes manières dans le système de récompense et pourraient représenter un mécanisme d'ajustement dopaminergique.

Il est possible d'élaborer plusieurs hypothèses pour synthétiser les connaissances actuelles. Les différences entre le cannabis exogène et endogène peuvent s'établir à plusieurs niveaux. Comme facteurs contributifs, il faut considérer les effets pharmacocinétiques des endocannabinoïdes, les différences retrouvées selon les espèces animales et les modèles utilisés, en plus des diverses cibles cannabinoïdes et non-cannabinoïdes. D'une part, il est vrai que les endocannabinoïdes ont des effets pléiotropiques selon le type de tissu, le stade de la maladie (aigu ou chronique) et les récepteurs impliqués²⁹⁸. D'autre part, les effets du Δ^9 -THC sont aussi très variables selon la neurotransmission directement et indirectement impliquée et, hypothétiquement, selon la dose consommée. Nous pouvons alors soulever l'hypothèse d'une vulnérabilité liée au système endogène cannabinoïde qui entraîne un effet variable du Δ^9 -THC. Nous devons particulièrement noter les particularités des sujets à l'étude car la pathologie sous-jacente peut influencer nos conclusions. Une nouvelle étude clinique naturaliste soulignait les différences préalables entre des sujets atteints de schizophrénie et des sujets sains. En effet, une abstinence suite à un usage chronique de cannabis semblait créer des différences dans le fonctionnement neurocognitif pré-attentionnel des patients

schizophrènes par rapport à des sujets sains avec la même consommation antérieure ²⁹⁹. De plus, il faut considérer les variantes des composés du cannabis consommé qui contient non seulement du Δ^9 -THC mais également du cannabidiol qui augmente les niveaux d'anandamide chez les rongeurs ³⁰⁰. Or, il faut aussi tenir compte de l'effet d'une drogue sur la récompense d'une autre drogue et donc de l'ensemble des drogues consommées chez un même individu et leurs interactions moléculaires non négligeables.

Les différentes fonctions pharmacologiques des cannabinoïdes endogènes et exogènes sont aussi en cause. Comme l'anandamide, le Δ^9 -THC par exemple a des propriétés comme agoniste partiel de CB1 et CB2^{301, 302}. De façon chronique, le Δ^9 -THC régule négativement les récepteurs CB1 ^{303, 304}. Dans certaines études in vitro, le Δ^9 -THC s'est comporté en antagoniste sur les récepteurs CB2. Un blocage de la transmission rétrograde des endocannabinoïdes par le Δ^9 -THC a aussi été avancé. Ce dernier semble activer d'autres récepteurs tel que PPAR- γ , ce qui stimule l'adipogénèse et entraîne une vasodilatation, de façon dépendante à la durée de consommation de substances ³⁰⁵. Tel que déjà mentionné, l'anandamide se lie aussi aux récepteurs PPAR et TRPV1. Les parallèles pharmacologiques sont résumés dans le tableau II. Par rapport aux systèmes de neurotransmission, le Δ^9 -THC atténue le GABA, stimule la DA et le glutamate dans le cortex préfrontal des rats, des effets dépendants de CB1²²². Ces divers changements dans le cortex préfrontal, telle que l'augmentation de DA, peuvent être reliés à des changements de l'activité électrique des voies mésocorticales par les ECB³⁰⁶.

Tableau II: Hypothèses pharmacologiques: les effets des ligands THC et anandamide selon les principaux récepteurs

	Anandamide	THC
CB1	agoniste partiel	agoniste partiel
TRPV1	agoniste spécifique à hautes doses	Ø
PPAR	agoniste à hautes doses	PPAR γ

Légende: CB1: cannabinoïde type 1; CB2: cannabinoïde type 2; TRPV1: récepteur à potentiel transitoire de type vanilloïde; PPAR: récepteur activé par les proliférateurs de peroxisome; THC: tétrahydrocannabinol; Ø: pas d'effet connu.

5.1.4.2.2.2 Opiïdes

En ce qui concerne les opioïdes, le récepteur CB1 est impliqué dans leurs effets de récompense. En outre, nous remarquons un phénomène intéressant d'interactions fonctionnelles bidirectionnelles entre les cannabinoïdes et les opioïdes³⁰⁷. Entre les récepteurs CB1 et mu, il y aurait une synergie dans la modulation de la relâche glutamatergique et GABAergique par le Δ^9 -THC. Cela ajoute à la complexité de l'analyse de situations cliniques où certains patients consomment plus d'une substance et aussi dans l'approche thérapeutique considérant l'interdépendance des molécules cannabinoïdes et opioïdes. La récompense induite par les cannabinoïdes et opioïdes implique des effets de facilitation de la transmission dopaminergique dans le mésolimbique^{308, 309}. Les effets de récompense induits par Δ^9 -THC nécessitent les

récepteurs mu-opioïdes et sont absents dans une invalidation de ce récepteur ³¹⁰. Le système ECB joue également un rôle dans la dépendance physique aux opioïdes.

5.1.4.2.2.3 Alcool

La consommation d'alcool peut être liée au système endocannabinoïde à différents niveaux de la transmission et ainsi offrir des pistes de compréhension. Par exemple, des blocages génétiques ou pharmacologiques de l'activité de l'enzyme de dégradation de l'anandamide, l'hydrolase d'acides gras aminés (FAAH), augmente la préférence à l'alcool chez les souris ³¹¹ alors que l'inhibition du transport de l'anandamide réduit l'auto-administration d'alcool ³¹². Chose certaine, le système ECB contribue aux effets de récompense de l'alcool en modulant la transmission de DA, par un mécanisme dépendant de CB1 ³¹³. Les récepteurs CB1 sont aussi impliqués dans les mécanismes de rechute à l'alcool, d'auto-administration d'alcool et de nourriture ³¹⁴. Dans ce cas-ci, il faut particulièrement considérer la prise orale de l'alcool, ce qui nécessite la considération de mécanismes endogènes liés à l'apport plus global de nourriture et qui inclut les endocannabinoïdes. Les résultats d'une étude récente suggéraient que l'anandamide plasmatique procurait un marqueur de désir de consommation d'alcool lors d'une consommation sociale, ce qui semble être supprimé chez des alcooliques récemment abstinents³¹⁵, d'où la pertinence de considérer les fenêtres et durées de consommation. De plus, la prise chronique d'alcool régule négativement les récepteurs CB1 ³¹⁶ et diminue leur fonction ce qui amène des nuances intéressantes dans des

contextes de dépendance. En effet, l'internalisation des récepteurs CB1 comme mécanisme sous-jacent à la tolérance est un processus pharmacodynamique qui se produit en présence répétée et chronique de substances agonistes de CB1, comme le sont plusieurs drogues. La prise d'éthanol modifie les niveaux d'ECB intra-cérébraux, diminue AEA avec une prise aiguë et à court terme ^{317,318, 319}. À l'inverse, lors d'une dépendance ou un sevrage à l'éthanol induits par une prise chronique, il y a augmentation des ECBs et une diminution du nombre de récepteurs CB1^{291, 320, 321}.

5.1.4.2.2.4 Psychostimulants

Toutefois, la consommation de psychostimulants est encore plus intrigante par les voies d'activation impliquées. En effet, la cocaïne, par exemple, agit directement sur la DA en se liant aux transporteurs de dopamine et en bloquant ainsi leur recapture, ce qui augmente la DA extra-cellulaire ³²². Les récepteurs CB1 semblent moins impliqués dans les mécanismes primaires de renforcement de la récompense aux psychostimulants. De même, certains effets comportementaux ne sont pas modifiés lors des invalidations géniques de CB1R ³²³. Toutefois, l'auto-administration de cocaïne s'est avérée réduite avec le rimonabant (antagoniste CB1R)³²⁴. Les récepteurs CB1 modulent la motivation par rapport aux indices saillants dans l'environnement ce qui mène à un comportement de recherche de drogues et à la rechute³²⁴⁻³²⁶. L'invalidation génique des récepteurs CB2 chez des souris avec un modèle à terrain ouvert, augmente la sensibilité aux effets moteurs stimulants de la consommation de cocaïne ²¹². Il est à noter que le THC et le

cannabidiol ont facilité l'extinction de la préférence de place induite par la cocaïne et les amphétamines, phénomène non renversé par le rimonabant ³²⁷. Cet effet pourrait être médié par un autre récepteur tels que CB2, TRPV1 ou PPAR. Il pourrait s'agir également d'une influence indirecte des récepteurs CB1 sur la motivation à rechercher des drogues. Nous reconnaissons un effet neuroadaptatif à la consommation chronique de cocaïne qui crée une augmentation du recrutement de CB1R, phénomène possiblement lié à la motivation³²⁸. Des données suggèrent aussi l'interaction du système ECB avec les mécanismes noradrénergiques pour influencer la rechute sous stress d'un comportement de recherche de cocaïne³²⁹. Certes, l'effet des endocannabinoïdes est plus complexe pour cette classe de drogues et n'est pas complètement élucidé.

5.1.4.2.2.5 Nicotine

Par ailleurs, si nous observons la prise de nicotine, la récompense dépend elle aussi des récepteurs CB1 alors que sa cible principale d'action est le récepteur ACh nicotinique. Nous savons qu'il y a un chevauchement dans la distribution des récepteurs CB1 et nACh dans l'hippocampe et l'amygdale³³⁰. L'inhibition de FAAH, enzyme qui hydrolyse OEA, PEA et AEA, atténue la réponse excitatrice de la nicotine sur les neurones DA dans l'aire tegmentaire ventrale par PPAR- α et ce, indépendamment des récepteurs CB1. Il faut être prudent quant aux conclusions hâtives pour l'ensemble des drogues d'abus. Une équipe de recherche a récemment démontré que ce mécanisme était

sélectif à la nicotine³³¹. Une autre équipe a démontré que des analogues OEA et agonistes sélectifs de PPAR- α ont sélectivement diminué l'effet de la nicotine mais pas celui de la cocaïne ou de la nourriture ³³¹. Nous pouvons soulever de potentielles interactions entre les récepteurs PPAR et nACh.

5.1.4.3 Dépendance aux drogues et système glutamatergique

De plus, il faut considérer un autre système de transmission qui est affecté dans la dépendance aux drogues soit le système glutamatergique³³². Comme ce système est modulé par les endocannabinoïdes, nous avons tout intérêt à le comprendre davantage dans un contexte de consommation. Les toxicomanes semblent avoir une communication altérée entre le cortex et le noyau accumbens, rendant difficile le contrôle du comportement de recherche de drogues et impliquant les voies glutamatergiques. Dans les modèles animaux de dépendance à l'héroïne, à la cocaïne et à la nicotine, il est question d'une altération de l'homéostasie du glutamate, c'est-à-dire de la balance entre la relâche de glutamate pré-synaptique et gliale et l'élimination, particulièrement dans le noyau accumbens³³². Cela implique des changements morphologiques des épines dendritiques, des protéines de régulation post-synaptiques et des changements dans la physiologie synaptique du glutamate. Chez l'animal traité de façon répétée avec de la cocaïne, les niveaux extracellulaires de base de glutamate sont abaissés de 50% dans le noyau accumbens³³³. Les niveaux extracellulaires de glutamate dépendent des sources gliales, de la régulation par les récepteurs mGluR et de la

recapture du glutamate, processus altérés suite à une dépendance à la nicotine ou à l'héroïne. La réduction de l'échange cystine-glutamate dans le noyau accumbens par la prise de cocaïne diminue non seulement les concentrations extracellulaires de glutamate mais également l'activation des récepteurs mGlu2/3³³⁴. Nous savons que cet échange cystine-glutamate est l'étape limitante de la synthèse de glutathion dans les cellules gliales³³⁵. Parmi les récepteurs glutamatergiques, le groupe II est présynaptique et comprend les récepteurs métabotropiques 2 et 3 qui agissent comme autorécepteurs, contrôlant la relâche de glutamate, et comme hétérorécepteurs, contrôlant la relâche de neurotransmetteurs tels que le GABA. La diminution des récepteurs mGluR2/3 par la prise chronique de drogues entraîne une augmentation de glutamate synaptique en présence de facteurs de rechute (stress, indice de la substance). Fait intéressant, cette diminution des mGluR2/3 promeut la recherche de drogues. La recapture de glutamate de l'espace extracellulaire et les niveaux de GLT1 (transporteur primaire glial) sont abaissés dans le noyau accumbens après la consommation de cocaïne et de nicotine³³⁶⁻³³⁷. Cette difficulté d'élimination combinée à une relâche plus grande de glutamate entraînent donc une surcharge de glutamate synaptique lors de la rechute des comportements de recherche de drogues. Nous savons aussi que les endocannabinoïdes régulent de façon rétroactive la relâche de glutamate. Devant des niveaux extracellulaires de glutamate abaissés, nous pourrions alors nous attendre à un abaissement des endocannabinoïdes chez les toxicomanes pour compenser. À l'inverse, devant des niveaux synaptiques augmentés du glutamate, nous pourrions nous attendre à une élévation des endocannabinoïdes pour atténuer la relâche. De plus, l'effet chronique

des drogues altère les protéines responsables de la régulation de la transcription et de la signalisation cellulaire^{338, 339}. Ainsi, étant donné le problème homéostatique du glutamate chez les toxicomanes, nous supposons une altération conséquente des mécanismes de synthèse sur demande des endocannabinoïdes.

Par ailleurs, nous avons reconnu aussi l'altération de la plasticité synaptique dans la toxicomanie. La dépression à long terme, un affaiblissement prolongé de la force synaptique, de la transmission excitatrice du noyau accumbens n'a pas été altérée lors d'une consommation chronique de Δ^9 -THC, malgré la présence diminuée de CB1R et l'effet de tolérance des agonistes CB1R sur la transmission³⁴⁰. Nous retenons majoritairement une préservation de la dépression à long terme, bien qu'une autre étude démontrait une diminution dans le même contexte³⁴¹. Il semble que cette préservation de la dépression à long terme ait exigé le recrutement des mGluR 2/3 qui compensent pour l'influence réduite des ECB par la désensibilisation de CB1³⁴⁰.

Par rapport à l'état de récompense allostatique, nous savons qu'il implique l'axe HHS. Le stress et les glucocorticoïdes sensibilisent les voies de récompense et stimulent l'auto-administration de drogues. L'exposition initiale à une drogue est suivie d'une réponse négative lors du retrait ce qui déclenche l'homéostasie par la reprise de drogues et recrute les systèmes de stress. À long terme, ce mécanisme mène à un état allostatique avec de hauts niveaux de glucocorticoïdes et peptides liés au stress et un axe HHS

hyperactif qui mène à l'escalade de la consommation³⁴². Les ECB ont un rôle dans cette homéostasie en atténuant l'activité de l'axe HHS.

5.1.4.4 Consommation et changements neuroendocriniens

Par ailleurs, des changements neuroendocriniens se produisent en réponse à la consommation chronique de drogues. Les études animales suggèrent de plus en plus l'influence dans les tableaux psychiatriques de peptides cérébro-intestinaux, telles que la ghreline et la leptine. Le système hormonal s'active plus particulièrement suite à la prise d'alcool. Comme nous connaissons l'implication du système neuroendocrinien dans les formes de dépendance à la nourriture, nous pouvons supposer que l'alcool a cet effet en raison de sa consommation *per os*³⁴³. Au niveau central, la ghreline est importante pour le mécanisme de renforcement à l'alcool et implique le récepteur à ghreline (GHS-R1A). La relâche de DA dans le noyau accumbens dépend de ce récepteur³⁴⁴. Or, le récepteur GHS-R1A est aussi requis pour la récompense induite par les psychostimulants³⁴⁵. La ghreline a pour cible le système de récompense mésolimbique, incluant des projections dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale au noyau accumbens. La stimulation motrice et la relâche de dopamine dans le noyau accumbens induites par la ghreline peuvent être atténuées par une administration d'un antagoniste NMDA dans l'aire tegmentaire ventrale. Nous savons qu'un état d'hyperghrélinémie est associé à des comportements de dépendance aux drogues comme les compulsions de nourriture et la dépendance à l'alcool. La ghreline aurait un rôle important dans la

dépendance à l'alcool. Chez l'humain, il y aurait une corrélation entre les niveaux de ghreline et le désir de consommer des personnes alcooliques. Une investigation récente a suggéré que la ghreline est potentiellement impliquée dans le comportement de recherche de drogues, telle que la prise d'alcool et le sevrage³⁴⁶. La signalisation centrale de la ghreline confère de nouvelles cibles pharmacologiques pour la dépendance aux drogues d'abus.

Ainsi, le système endocannabinoïde est impliqué dans le système de récompense aux drogues par l'intermédiaire de ses ligands et aussi de différents récepteurs (CB1, PPAR, TRPV1). Il est aussi étroitement lié aux systèmes dopaminergique et glutamatergique qui sont perturbés dans la toxicomanie chronique par altération de la plasticité. Puis, nous retrouvons aussi des interactions entre le système ECB et les voies neuroendocriniennes menant à une allostasie. Certes, les tableaux cliniques sont souvent complexes et nous considérons également différents éléments de personnalité, comme l'impulsivité et la recherche de nouveauté, pour lesquels nous avons des assises en recherche. Une vulnérabilité endogène à toutes les formes de récompense est au nombre des considérations.

5.1.5 Système endocannabinoïde: métabolisme

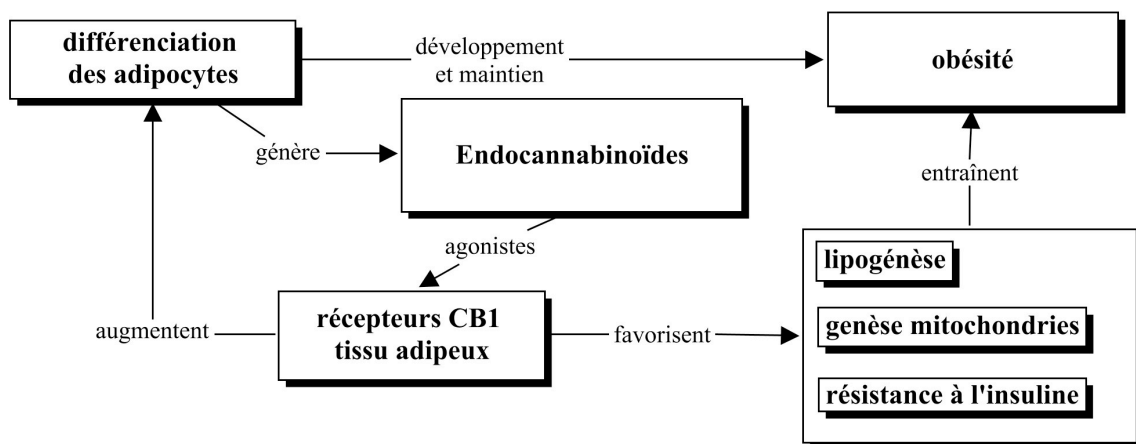
L'importance clinique des problèmes métaboliques chez les schizophrènes est majeure tel que décrit dans la revue de littérature présentée préalablement dans ce mémoire. Certes, devant cette grande prévalence du syndrome métabolique, il devient nécessaire

de considérer cette problématique clinique dans les axes de recherche en psychiatrie. Comme certains dérèglements sont liés à la schizophrénie elle-même, préalablement aux habitudes de vie et à la médication, plusieurs données permettent d'envisager un désordre endogène explicatif. Nous soulevons l'hypothèse d'une implication du système ECB dans la prédisposition des patients schizophrènes à développer des troubles métaboliques. Les endocannabinoïdes sont impliqués dans des mécanismes cérébraux comme la motivation et la récompense associées à la prise de nourriture et ils ont également un rôle prépondérant dans le noyau accumbens et l'hypothalamus pour le contrôle de la prise de nourriture. De plus, les ECB ont un rôle neuroendocrinien, en intégrant l'information des circuits neuronaux et en gérant la coordination des hormones et neuropeptides déterminant la balance énergétique. Le système ECB recèle une importance en clinique quant à la compréhension de la physiopathologie et aux interventions auprès des patients atteints d'obésité, de troubles alimentaires et métaboliques. Cela permet de soulever différentes hypothèses au sujet de la schizophrénie à vérifier dans des études futures. Nous pouvons éclaircir le rôle du système ECB en abordant d'une part les implications périphériques et d'autre part les aspects centraux. Une revue de la littérature récente apporte de nouveaux éclairages à cet effet.

En effet, tel que décrit préalablement, il y a des récepteurs endocannabinoïdes en périphérie notamment sur les adipocytes, entraînant des implications métaboliques (cf

figure 2). Cette influence en périphérie peut avoir altéré les résultats plasmatiques des ligands ECB, tel que déjà relevé dans l'exposition des biais.

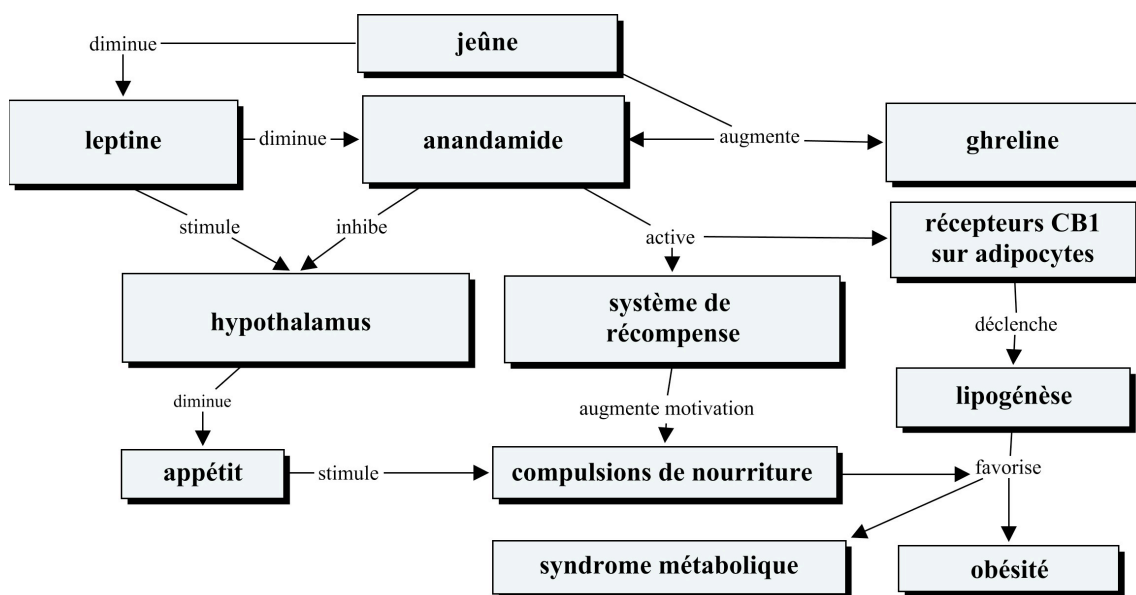
Figure 2: Le système endocannabinoïde et les influences périphériques sur le métabolisme



Par ailleurs, l'anandamide interagit avec les principales hormones liées à la prise de nourriture, soit la leptine et la ghreline, retrouvées dans le système nerveux central et en périphérie. La ghreline a des effets orexigènes, c'est-à-dire qu'elle augmente l'appétit²⁶⁸. Ainsi, elle s'élève à jeun et s'abaisse pendant la prise de nourriture, alors que la leptine diminue durant le jeûne. Nous savons également que la leptine abaisse l'anandamide. Le blocage de FAAH augmente l'anandamide²⁵⁸ ce qui restaure la prise de poids chez les rats et la prise de sucre sous stress modéré²⁵⁶. L'injection directe d'anandamide dans le noyau accumbens stimule la prise de nourriture²⁵⁴. Nous pouvons ainsi soulever certaines hypothèses de mécanismes sous-jacents reliant l'anandamide aux deux hormones maintenant la balance énergétique (cf figure 3). En effet, l'augmentation de l'anandamide et ses effets orexigènes dépendraient possiblement de l'augmentation de la

ghreline. Certes, l'obésité est associée à un hyperanandaminergisme. De plus, ces différentes interactions peuvent aussi dépendre des récepteurs PPAR. En effet, l'anandamide est un agoniste de ces récepteurs impliqués dans le métabolisme.

Figure 3: Ligands endocannabinoïdes et principales hormones impliqués dans le système de récompense et voies hypothalamiques balançant le contrôle métabolique



De plus, nous pouvons supposer des communications croisées entre l'OEA, l'anandamide et la ghreline²⁶⁸. La molécule OEA est structuellement similaire à l'anandamide mais n'active pas les récepteurs cannabinoïdes^{88, 90}. OEA est particulièrement impliqué dans la balance énergétique, induit la satiété et diminue la prise de nourriture en activant PPAR- α ¹²⁴. Ce récepteur joue ainsi un important rôle dans l'homéostasie des lipides. OEA s'élève pour diminuer la prise de poids et l'hyperlipidémie ce qui pourrait servir de mécanisme de compensation. En effet, OEA semble détenir des propriétés anorexigènes médiées par des signaux périphériques et par

des altérations centrales des neuropeptides exprimés par des structures hypothalamiques¹²⁴. En effet, l'hypothalamus, tel que le noyau paraventriculaire (PVN), reçoit des input de systèmes sensoriels périphériques^{347,348}. L'anandamide, agoniste CB1R, stimule la prise de nourriture et la lipogénèse, alors que OEA, agoniste endogène de PPAR- α , diminue l'apport alimentaire et active la mobilisation et l'oxydation de lipides. Alors que nous savons que les antagonistes CB1R sont efficaces dans la réduction de poids et de cholestérol chez l'animal et chez l'humain obèse, une étude a démontré de façon fort intéressante une approche combinée avec OEA et rimonabant qui s'est avérée efficace et synergique pour diminuer le poids, la prise de nourriture et les niveaux de cholestérol plasmatique³⁴⁹.

Les endocannabinoïdes sont impliqués dans la neurotransmission et dans les signaux paracrines et endocriniens. Ils s'inscrivent aussi dans les mécanismes physiologiques et comportementaux liés à la réponse au stress⁸². Les endocannabinoïdes servent à maintenir l'homéostasie de l'axe HHS menant à la relâche des hormones de stress. Le système ECB permet de réviser des mécanismes de rétroaction atténuant par exemple la relâche de glucocorticoïdes. La signalisation du système ECB, particulièrement par les récepteurs CB1 offre une importante médiation allostatique, c'est-à-dire que ses réponses sont influencées par le stress et ses actions modulent la réponse au stress²⁵³. Par exemple, il semble que les mécanismes de récompense soient atténués en présence de stress chronique, par l'intermédiaire des ECB. Ainsi, on suggère de plus en plus l'implication des ECB dans les phénomènes allostatiques fondamentaux maintenant le

corps en équilibre face au stress et changements homéostasiques imposés par le stress. L'étude du système ECB permet ainsi d'entrevoir des mécanismes plus détaillés et interactifs dans les boucles de rétroaction et entre les systèmes de récompense impliqués dans le métabolisme, la toxicomanie et la schizophrénie.

5.2 Intégration: hypothèses endocannabinoïdes dans la schizophrénie et comorbidités

Étant donné les multiples implications du système ECB, des perspectives divergent à savoir si les perturbations endocannabinoïdes sont primaires ou secondaires aux mécanismes déjà connus dans la schizophrénie. En ce sens, nous pouvons envisager un rôle homéostatique menant à des mécanismes protecteurs et/ou un rôle associé à des vulnérabilités préalables. Comme tout mécanisme endogène, les processus de maintien de l'homéostasie peuvent à long terme devenir nuisibles pour l'organisme lui-même. L'élévation d'endocannabinoïdes n'est pas toujours protectrice et peut activer, médier ou exacerber des effets indésirables³⁵⁰. L'analyse complète doit aussi combiner, d'une part, la présence de la maladie psychotique et des conditions pathologiques comorbides à la schizophrénie en plus d'intégrer, d'autre part, les phénomènes physiologiques impliquant les endocannabinoïdes. Une réflexion sur le fonctionnement physiopathologique menant à la schizophrénie peut ainsi tenir compte de mécanismes adaptatifs qui, sur une longue période, mènent au développement de la maladie. Par exemple, il faut considérer les différentes phases cliniques de la maladie en incluant les

processus d'adaptation durant la période de prodrome qui peut s'étendre sur 5 ans³⁵¹ et les différents cycles de rémission et rechute. Ainsi, un modèle plus intégratif reflèterait aussi les changements neurobiologiques qui s'installent à long terme, au plan longitudinal. Notre réflexion s'inspire donc des phénomènes cliniques et des processus moléculaires.

Les endocannabinoïdes sont impliqués dans la schizophrénie et ses comorbidités principales qui sont la toxicomanie et les troubles métaboliques. À la lumière de notre recherche clinique, nous obtenons une perspective supplémentaire au sujet de l'interaction entre la consommation et les symptômes psychotiques. Nous réviserons dans cette section les différentes hypothèses explicatives de ce phénomène miroir obtenu entre deux populations. Cela permettra ensuite dans la seconde section un modèle préliminaire de compréhension en reliant ces hypothèses aux paradigmes neurochimiques déjà établis dans la schizophrénie.

5.2.1 Effet miroir de la consommation sur les valeurs endocannabinoïdes

Nous nous sommes penchés sur l'impact de la consommation sur les valeurs plasmatiques des endocannabinoïdes chez des patients psychotiques. Ainsi, les résultats de notre étude soulevaient que la toxicomanie altère différemment les ECB selon la présence d'une psychose (ou une vulnérabilité psychotique). En effet, le groupe de patients avec toxicomanie sans schizophrénie avait un abaissement de l'anandamide et

de l'OEA alors que le groupe de double diagnostic avait la présentation inverse d'une élévation de l'anandamide et de l'OEA. Cet effet miroir permet d'envisager différentes hypothèses. Nous pouvons notamment soulever la possibilité que l'augmentation de l'anandamide et OEA soit un marqueur de vulnérabilité psychotique dans un contexte de consommation.

5.2.1.1 Hypothèses pharmacologiques de l'effet miroir: agonisme partiel

Nous proposons ici des explications pharmacologiques possiblement sous-jacentes à l'effet miroir retrouvé dans notre étude et tenant compte de la consommation. Nous supposons que les drogues, comme cela a été confirmé pour le THC, agissent selon un mécanisme d'agonisme partiel sur les récepteurs CB1³⁰¹. Ce mécanisme peut suivre soit les perturbations endocannabinoïdes ou différentes perturbations neurochimiques comme celles de la dopamine et du glutamate, neurotransmetteurs déjà étroitement liés aux endocannabinoïdes. Nous observerons en premier l'hypothèse d'un mécanisme d'agonisme partiel selon les perturbations endogènes du système cannabinoïde, elles-mêmes marqueurs de vulnérabilité psychotique. Ainsi, dans un état hypo-endocannabinoïdergique, les drogues agiraient en tant qu'agonistes des récepteurs CB1 alors que lors d'un état hyper-endocannabinoïdergique, les drogues seraient antagonistes de la transmission au récepteur CB1. Ainsi, cette augmentation ou réduction de la transmission endocannabinoïde influencerait ensuite la relâche de DA et les symptômes psychotiques. Si nous prenons plus précisément l'élévation des ECB chez les patients

avec double diagnostic comme marqueur de vulnérabilité, cela susciterait un antagonisme fonctionnel du THC sur les récepteurs CB1 et nuisible au mécanisme adaptatif déjà en place (cf figure 1). Cela peut donc favoriser un état psychotique. Chez les toxicomanes sans schizophrénie, étant donné l'absence de vulnérabilité psychotique préalable par l'abaissement des ECB, le THC servirait d'agoniste des récepteurs CB1 produisant les effets de récompense.

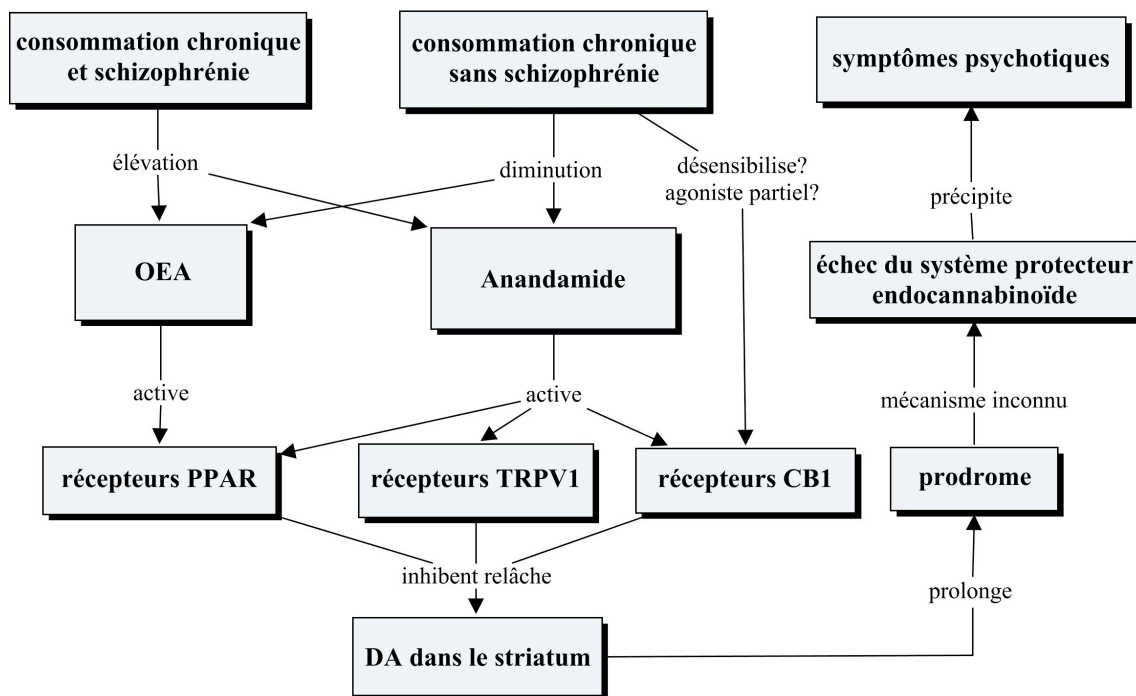
Nous pouvons soulever une nuance par une vision longitudinale, en postulant que le groupe double diagnostic avait peut-être préalablement un abaissement des ECB et que la prise chronique de drogues a entraîné un effet agoniste menant à l'élévation que nous mesurons actuellement. De la même façon, chez les toxicomanes, nous aurions pu soulever une élévation préalable des ECB et un antagonisme des drogues menant à l'abaissement des ECB mesuré dans notre étude. Cependant, il est possible d'émettre quelques contre-arguments par rapport à cette perspective. D'abord, un abaissement préalable des ECB chez des patients schizophrènes consommateurs ne concorde pas avec les résultats dans la littérature ^{78, 80}. De plus, un antagonisme des drogues sur le récepteur CB1 court-circuiterait l'effet de récompense attendu et bien démontré dans la consommation. De la même façon, la dépendance aux drogues nécessite un agonisme répété et chronique du récepteur CB1 entraînant son internalisation et les effets de tolérance. Donc, cette perspective est beaucoup moins probable que la précédente.

De plus, il faut considérer que l'ensemble du modèle proposé repose sur un mécanisme protecteur des endocannabinoïdes pour retarder les symptômes psychotiques. Certes, si nous présupposons un mécanisme nuisible sous-jacent à l'élévation des endocannabinoïdes, alors les schèmes de compréhension présentés ici sur les effets de la consommation seraient inversés. Cela nous apparaît moins probable étant donné les études cliniques qui suggèrent un rôle protecteur pour retarder la psychose franche ¹⁸⁷. Dans la même optique, les interactions moléculaires du système ECB avec la DA et le glutamate suggèrent bel et bien des ajustements protecteurs de la psychose.

En outre, nous pouvons considérer également l'effet agoniste partiel des drogues selon l'état dopaminergique en place, étant donné que le système ECB est un système de modulation qui répond sur demande, notamment des neurotransmetteurs telle que la dopamine. Dans notre étude, les drogues produisent des effets opposés selon une population psychotique ou non, et donc dans un état d'hyperdopaminergisme chez les psychotiques ou d'hypodopaminergisme chez les toxicomanes. Ainsi, les drogues pourraient élever l'anandamide et l'OEA dans un état hyperdopaminergique pour abaisser cet excès de dopamine alors que dans un contexte de consommation chronique, les endocannabinoïdes seraient abaissés pour atténuer le mécanisme de rétroaction négative sur la dopamine. Nous supposons un agonisme ou antagonisme fonctionnel et/ou l'intervention de d'autres récepteurs. Dans une étude chez des volontaires sains, un traitement d'haloperidol préalable à la prise de THC n'abaissait pas les effets du THC. Dans ce cas-là, les auteurs supposaient que les effets du THC dépendaient d'un

mécanisme indépendant du récepteur D2, certes comme le récepteur CB1, mais également à travers les autres récepteurs du système ECB. Les effets variables des drogues sur les valeurs ECB plasmatiques selon l'état dopaminergique appuient donc l'hypothèse d'une implication d'autres récepteurs tels que PPAR et TRPV1, permettant d'intégrer nos résultats dans une perspective intégrative. En effet, l'élévation des ECB dans un contexte de double diagnostic permet un agonisme de PPAR et de TRPV1 réduisant la DA dans le striatum, mécanisme réputé pour abaisser la symptomatologie psychotique (cf figure 4). Cela soulève aussi l'argument des effets opposés des ligands ECB respectivement sur des récepteurs CB1 et TRPV1 dans une même situation pour maintenir une homéostasie. Nous savons aussi qu'à de hautes doses, l'anandamide agit de façon plus puissante sur TRPV1 que CB1. Cela nous ramène également à la notion que les agonistes CB1 offrent des effets biphasiques de façon dépendante à la dose dans la modulation des systèmes de neurotransmission³⁵².

Figure 4: Modèle adaptatif: influence de la consommation selon une vulnérabilité psychotique et impliquant l'anandamide et l'OEA et différents récepteurs cannabinoïdes.



Nous pouvons également émettre brièvement l'hypothèse que l'agonisme partiel des drogues s'effectue selon un état glutamatergique, lui-même modifié par les ECB. En effet, chez les patients schizophrènes, nous connaissons l'hypoactivation du récepteur NMDA et de la transmission glutamatergique dans le cortex préfrontal. Chez les toxicomanes, il y a un état hypoglutamatergique suite aux mécanismes allostatiques du glutamate, avec des modifications particulièrement dans le noyau accumbens³³².

5.2.1.2 Altérations de la neurotransmission: médication

Une autre perspective souligne des conditions variables de la transmission synaptique en raison du type de médication. Il est pertinent de considérer le traitement pris par les patients schizophrènes préalablement à l'étude, plutôt que la maladie sous-jacente. En effet, avant le changement à la quetiapine, les patients du groupe double diagnostic prenaient des typiques (n=9) ou des atypiques (n=25) alors que les patients avec schizophrénie sans consommation prenaient des typiques (n=5) et des atypiques (n=14). Nous savons que dans une autre étude l'anandamide était sélectivement élevé dans le LCR chez des patients schizophrènes naïfs aux antipsychotiques ou sous atypiques et alors que les patients traités avec un antagoniste D2 typique n'avaient pas d'élévation de l'anandamide⁸⁰. Le traitement préalable peut ainsi modifier les valeurs obtenues, notamment en altérant les forces synaptiques et la transmission à long terme, avant l'instauration de la nouvelle molécule dans l'étude. Dans le même ordre d'idées, l'effet miroir de la consommation selon la présence ou l'absence de schizophrénie pourrait être influencé par le traitement préalable à l'entrée dans l'étude des patients et non seulement par la vulnérabilité psychotique. Ainsi, la consommation n'aurait pas d'effet sur les ECB si la prise préalable était des typiques alors que les valeurs d'ECB pourrait être élevées dans le cas d'atypiques préalables. Les toxicomanes ne prenaient pas de médicaments avant l'étude et ne pouvaient pas avoir une altération de la neurotransmission par ce mécanisme.

5.2.1.3 Altérations de la neurotransmission: toxicomanie

Or, les toxicomanes chroniques ont d'autres formes d'altérations de la transmission synaptique dues aux substances. En plus de l'influence de la maladie psychotique, les patients avec double diagnostic subissent l'influence combinée de la consommation chronique et de la médication préalable sur les changements à long terme de la neurotransmission. En effet, tel que déjà mentionné, la prise chronique de drogues est associée à un hypodopaminergisme et un hypoglutamatergisme. Par ailleurs, il ne faut pas négliger toutes les interactions de la prise de drogues et de médicaments, comme les effets de chacun sur la sensibilisation à la neurotransmission de l'autre.

Par ailleurs, nous ne pouvons négliger chez les toxicomanes l'état hypodopaminergique, hypocannabinoïdérique et hypoglutamatergique, comparativement aux patients schizophrènes. Prenons un exemple plus précis. Nous pouvons émettre une autre hypothèse concernant les changements de neuroplasticité. Nous avons soulevé dans une section précédente la nécessité des récepteurs mGluR2/3 pour maintenir la dépression à long terme des projections glutamatergiques du cortex préfrontal au noyau accumbens lors d'une consommation chronique de drogues. Or, nous savons également que dans la schizophrénie, la transmission glutamatergique est déficitaire et une des options thérapeutiques potentielles passe par les récepteurs mGluR2/3. Ainsi, chez les patients avec double diagnostic, un défaut de mGluR2/3 avec une consommation chronique de drogues atténueraient la dépression à long terme des synapses excitatrices dans le noyau

accumbens et cela augmenterait la décharge dopaminergique menant à la psychose. Cette libération glutamatergique entraînerait aussi une augmentation de la libération d'endocannabinoïdes comme phénomène de rétroaction. Nous retrouvons cette augmentation ECB particulièrement chez ce groupe de patients, donc lorsqu'il y a combinaison de la consommation et de la maladie psychotique.

L'élévation des ECB peut également être perçue initialement comme un phénomène physiologique qui facilite la neurotransmission dopaminergique chez les toxicomanes et étroitement lié à la récompense. Puis, de façon chronique, l'abaissement des ECB qui s'ensuit chez les patients toxicomanes sans trouble psychotique peut être à ce moment un mécanisme compensateur lors d'une dépendance aux substances entraînant un hypodopaminergisme. L'hypothèse d'une atténuation globale du système endocannabinoïde par la prise chronique de drogues pourrait s'expliquer par le phénomène de tolérance et l'atténuation des récepteurs. Il faut ainsi une plus grande consommation pour obtenir les effets de récompense liés à la décharge endocannabinoïde. De plus, étant donné la régulation négative des récepteurs CB1 avec la consommation chronique, de l'alcool par exemple³¹⁶, nous supposons que l'abaissement des ligands ECB peut survenir par augmentation de la recapture ou de la dégradation chez les toxicomanes. Il peut y avoir aussi compétition pour le même récepteur. Par exemple, la consommation de THC peut entrer en compétition avec l'anandamide au récepteur CB1 étant donné leurs différentes affinités et constantes K_i ³⁰¹. L'efficacité d'un agoniste pour son récepteur influence les mécanismes de

tolérance pour ce récepteur. Le THC agit davantage sur la diminution de l'efficacité du couplage au récepteur CB1 que sur l'internalisation ³⁵³. Le THC est un agoniste partiel de CB1 et CB2 et a une sélectivité et une puissance à ces récepteurs qui dépendent du niveau d'expression des récepteurs, la tolérance pharmacodynamique et l'influence de conditions pathologiques sur l'expression des récepteurs³⁵⁴. Il peut aussi y avoir un antagonisme fonctionnel par les substances sur le récepteur CB1, tel que mentionné. La fenêtre de sélectivité peut aussi être outrepassée selon les doses des agonistes CB1 en place et ainsi modifier la neurotransmission. Parmi les différents mécanismes moléculaires explicatifs, hormis l'internalisation des récepteurs CB1, nous connaissons aussi un site allostérique en plus de celui orthostérique, permettant la possibilité d'être activé ou inhibé par des agonistes directs endogènes ou exogènes ³⁵⁵.

Il ne faut pas perdre de vue que les ECB, dans ce cas-ci l'AEA et l'OEA, sont influencés par différents acteurs et synthétisés sur demande par différents stimuli. Certes, les endocannabinoïdes répondent à la demande des neurotransmetteurs mais également de mécanismes physiques, mécaniques et électriques. Les changements de l'AEA et de OEA peuvent ainsi se produire suite à de multiples phénomènes autres que des changements de la neurotransmission et qui dépassent le cadre actuel de ce mémoire.

5.2.1.4 Variations OEA et AEA: hypothèses enzymatiques

Un autre argument s'impose pour ne pas nécessairement considérer l'augmentation de OEA et AEA comme un phénomène lié à une cause unique. Tel que mentionné, alors que l'un peut être primaire, le second peut être secondaire. Nous savons que ces deux ligands endogènes ne partagent pas la même cascade de synthèse enzymatique ¹¹⁷. Ainsi, si nous présupposons qu'il s'agit d'un phénomène de synthèse augmentée ou diminuée (effet miroir), il faut ainsi chercher des mécanismes homéostatiques différents. À l'inverse, si nous tentons d'établir qu'il s'agit plutôt d'une altération de dégradation, nous pouvons retrouver un phénomène explicatif commun. Cette dernière perspective est appuyée par le fait que OEA et AEA sont corrélés dans les 3 groupes. Cela n'exclut pas toutefois des modes différents de compensation.

Chez les schizophrènes avec double diagnostic, il est possible que l'élévation de l'anandamide dans un contexte de consommation soit maintenue par des défauts des acteurs moléculaires de la dégradation ou la recapture des ECB. Partant de cette même réflexion, nous pouvons nous rappeler l'importance des différentes enzymes qui peuvent affecter l'anandamide *in vivo*. Nous connaissons quatre enzymes qui inactivent l'anandamide: les hydrolases des acides gras aminés (FAAH), P-450, LOX et COX-2^{102, 356-358}. Les FAAH dégradent l'anandamide en acide arachidonique et mettent fin à son activité neuromodulatrice³⁵⁹. Le cytochrome P-450 2D6, dont l'anandamide est un substrat avec une forte affinité, est présent dans le cerveau et on lui confère des

polymorphismes dans la schizophrénie³⁶⁰. Le métabolisme des substrats psychoactifs endogènes par 2D6 est augmenté lorsque FAAH est inhibé ou si 2D6 est augmenté. De façon très intéressante, il y a des niveaux protéiques de 2D6 particulièrement élevés chez des patients alcooliques dans le cortex frontal, le cortex temporal, l'hippocampe et la substance noire, différentes régions où l'on retrouve également des récepteurs CB1³⁶¹. Cette augmentation de l'expression de 2D6 chez les personnes avec dépendance à l'alcool peut abaisser l'anandamide circulant, de façon cohérente avec nos résultats chez les toxicomanes. Cependant, en présence d'un polymorphisme de 2D6 chez les schizophrènes, cela peut altérer le métabolisme et entraîner au contraire chez les patients avec double diagnostic une élévation des substrats. Il faudrait aussi considérer la médication préalable à l'entrée dans l'étude et pouvant avoir modifié ces enzymes.

On peut aussi considérer l'élévation de l'anandamide chez les patients avec double diagnostic soit comme une synthèse augmentée mais aussi possiblement comme une inhibition du métabolisme^{362, 363}. De la même façon, pour l'abaissement chez les patients toxicomanes, il peut y avoir une inhibition de la synthèse, mais il faut penser également à une exacerbation du métabolisme et de la dégradation. Ainsi, différents mécanismes moléculaires doivent être considérés sous les manifestations cliniques. Nous savons aussi que les ECB entraînent plus de dépression à long terme induite par stimulation cortico-striée des entrées glutamatergiques dans le noyau accumbens. Cette dépression à long terme des synapses nécessiterait les récepteurs D2 qui augmentent la relâche des ECB, soit en augmentant la synthèse, soit en abaissant le métabolisme ³⁶⁴. Bref,

l'activation dopaminergique des récepteurs D2 augmentant l'inhibition du glutamate pré-synaptique par les récepteurs CB1 dépendrait de la libération d'endocannabinoïdes.

5.2.1.4.1 Enzyme FAAH

Une autre possibilité de réponse réside aussi dans l'enzyme FAAH, responsable de la dégradation de OEA et AEA. Dans une étude chez des patients schizophrènes en phase aiguë, il y avait une élévation de l'ARNm de FAAH qui s'est normalisée avec l'amélioration du tableau clinique sous médication⁸⁷. Les auteurs avaient alors proposé une augmentation de FAAH de façon compensatoire pour atténuer l'augmentation de l'anandamide. À l'inverse, nous savons que l'inhibition de FAAH augmente l'anandamide et l'OEA et qu'un tel mécanisme pourrait être présent dans la schizophrénie avec double diagnostic. Autre phénomène intéressant, nous savons que l'augmentation de l'anandamide hausse la puissance de la liaison au TRPV1 et donc l'AEA procure ses effets davantage par ce récepteur que par CB1R dans ces conditions³⁶⁵. La liaison de AEA à TRPV1 peut procurer des effets opposés par rapport à la liaison de AEA à CB1R, ce qui n'est pas négligeable dans une compréhension globale du fonctionnement du système ECB et ses effets²⁹⁰. Nous savons aussi que l'inhibition de FAAH augmente aussi OEA qui peut alors interagir sur le récepteur PPAR pour abaisser la dopamine, phénomène non reproduit par des analogues de l'anandamide¹⁸⁵. Cela indique donc l'intervention d'autres ligands tels que OEA, tout en renforçant l'idée d'un mauvais fonctionnement de FAAH. De plus, il y a un polymorphisme C385A de

FAAH associé à la prise de poids et de drogues qui entraîne une diminution de l'activité de FAAH et une augmentation de l'AEA et OEA. Nous pouvons supposer que cette élévation de OEA et AEA chez les individus avec double diagnostic est liée au surpoids des schizophrènes combiné à la toxicomanie. Il faudrait des études pour vérifier si ce polymorphisme est associé davantage à des schizophrènes consommateurs par rapport à des schizophrènes non consommateurs. Chose certaine, la possibilité d'explications par ce polymorphisme renforce les hypothèses reliant des phénomènes neurobiologiques communs entre la consommation et les troubles métaboliques. Les phénomènes cliniques de *craving* pour la drogue et la nourriture et les interactions hormonales telles que la ghreline et la leptine impliquant le système endocannabinoïde pourront possiblement éclairer davantage nos résultats.

5.2.1.5 Effet miroir de OEA et métabolisme

Par ailleurs, il faut aussi observer l'implication des variations de OEA. Cette molécule endogène, un ligand du récepteur PPAR, était augmentée chez les patients avec double diagnostic. OEA pourrait être considéré comme un marqueur de vulnérabilité à la psychose dans un contexte de dépendance aux substances, au même titre que l'anandamide. Cependant, nous pouvons possiblement soulever un mécanisme différent et plus étroitement lié aux connaissances actuelles de cette molécule dans le métabolisme. En effet, OEA pourrait également contribuer à la physiopathologie de la prise de poids chez les schizophrènes. Il peut s'agir d'une interaction

neuroendocrinienne avec les hormones liées à la prise de nourriture et de poids, à laquelle les schizophrènes sont plus vulnérables. L'obésité est en soi un phénomène lié à une élévation anandaminergique^{366, 367}. Le thiazolidinedione pioglitazone, un anti-diabétique utilisé sur le marché, agit sur PPAR γ ³⁶⁸. Le rimonabant, efficace dans le traitement de l'obésité est un antagoniste des récepteurs CB1 et active aussi PPAR- γ ³⁶⁹. Une efficacité a été démontrée pour l'obésité en combinant OEA et rimonabant. Ainsi, alors que nous pouvons soupçonner l'élévation de l'anandamide comme un phénomène primaire ou représentant une vulnérabilité psychotique, nous pouvons parallèlement considérer l'élévation de OEA comme un phénomène de compensation. Prenons l'exemple des sujets de notre étude sous quetiapine qui entraîne de façon prévalente des troubles métaboliques. Dans de tels cas, l'augmentation de OEA peut s'effectuer dans un but d'atténuation homéostatique face à la charge métabolique, lipidique et glycémique.

Ainsi, nous pouvons considérer l'augmentation de OEA dans notre étude chez les patients avec double diagnostic comme un mécanisme homéostatique de protection métabolique sans égard à la symptomatologie psychotique. L'augmentation retrouvée dans un contexte précis de psychose et en présence de consommation soulève une hypothèse de vulnérabilité métabolique chez les patients psychotiques, sous consommation. Cela devra être analysé à la lumière des paramètres métaboliques de l'étude. Cette élévation de OEA particulièrement chez les patients avec double diagnostic peut être aussi reliée à la combinaison de la vulnérabilité neurobiologique des

schizophrènes à prendre du poids sous antipsychotiques, possiblement liée au système ECB, et de l'hyperanandaminergisme dans l'obésité.

5.2.1.6 Effet miroir: implication des récepteurs

De plus, nous pouvons mettre en relief non seulement des perturbations au niveau des ligands mais aussi au niveau des récepteurs cannabinoïdes, particulièrement l'élévation des récepteurs CB1 chez les schizophrènes parallèlement à l'abaissement des récepteurs CB1 avec la prise chronique de substances. Nous pouvons émettre l'hypothèse que chez les patients avec double diagnostic, les récepteurs ne sont pas modifiés et retrouvent un point d'équilibre. Chose certaine, cette différence d'expression des récepteurs selon les groupes soulève des différences de transmission endocannabinoïde.

Nous savons aussi qu'en présence d'une diminution de l'expression des CB1R par un phénomène pharmacodynamique de tolérance, il y a augmentation indirecte de la sélectivité des agonistes, tels que le THC^{354, 370}. Ainsi, chez les patients toxicomanes, nous supposons que les drogues sont plus sélectives au CB1R. Dans la schizophrénie avec l'élévation de CB1, les agonistes CB1 sont moins sélectifs et peuvent ainsi agir sur différents récepteurs et faire varier les ECB plasmatiques selon leurs liaisons.

Par ailleurs, les toxicomanes pouvaient avoir d'autres modifications à long terme dans la neurotransmission et ayant des impacts différents. Sachant que des schizophrènes

consommateurs de cannabis ont une perte significative d'axones et de dendrites visible à la résonance magnétique par rapport à des schizophrènes sans toxicomanie, un lien entre la consommation et la neurotoxicité est suspecté³⁷¹. Les schizophrènes semblent avoir une élévation des récepteurs CB1 possiblement comme mécanisme homéostatique pour moduler la neurotransmission dopaminergique, par exemple. La consommation chronique vient désensibiliser les récepteurs CB1 qui perdent alors cet effet de neuroprotection chez les patients schizophrènes. De la même façon, comme le THC, l'alcool occasionne aussi une perte tissulaire cérébrale à long terme. Ces effets de la consommation sur les tissus cérébraux doivent être considérés.

5.2.1.7 Effet miroir et hypothèses inflammatoires

Par ailleurs, les désordres endocannabinoïdes s'intègrent bien aux hypothèses inflammatoires de la schizophrénie³⁷². Avec notre étude qui n'a pas permis d'identifier d'altération primaire des endocannabinoïdes dans la schizophrénie, mais plutôt des modifications précisément dans un contexte de double diagnostic, nous pouvons supposer que les mécanismes sont une conséquence de la maladie sous consommation. Certes, la neuroinflammation peut être considérée elle aussi comme une cause ou une conséquence physiologique et de nouvelles études sont nécessaires pour le déterminer. L'élévation de OEA et AEA dans notre étude permettait de statuer cependant sur la nature liée au trait et non à l'état de la consommation puisque les valeurs plasmatiques ne variaient pas dans le temps. Nous pourrions alors penser que les réponses

inflammatoires sont plutôt chroniques et non épisodiques, parallèlement aux perturbations endocannabinoïdes. Des études contrôlant la prise d'antipsychotiques et des facteurs de stress permettront d'éviter certains facteurs confondants de l'évaluation des marqueurs inflammatoires. En outre, selon la théorie eicosanoïde, l'acide arachidonique est abaissé dans la schizophrénie. L'augmentation de OEA et AEA peut être à visée compensatoire pour ce déficit. Les connaissances actuelles ne permettent toutefois pas d'expliquer cette élévation précisément chez des patients avec double diagnostic.

5.2.1.8 Effet miroir et allostasie

Nous pouvons penser également que la dépendance aux drogues et la schizophrénie augmentent considérablement la charge allostatique et exigent une compensation plus grande de la part des ECB que la présence seule de l'une ou l'autre des conditions. Ainsi, premièrement, suite à une prise chronique de drogues, le système ECB est altéré. Parallèlement, l'axe HHS est dérégulé ce qui augmente la sensibilité au stress. Cela fragilise l'individu et amène le déclenchement de la psychose dans un contexte de vulnérabilité, selon un modèle de vulnérabilité-stress. Cette surcharge de stress entretient l'élévation des ECB par compensation. De façon concomitante, la prise de drogues est maintenue et augmente la vulnérabilité aux rechutes.

Donc, notre compréhension de l'effet miroir se trouve appuyée par différentes hypothèses: des marqueurs de vulnérabilité psychotique dans un contexte de consommation, des mécanismes pharmacologiques d'agonisme partiel selon le tonus endocannabinoïde, l'état dopaminergique ou glutamatergique, l'implication des phénomènes de plasticité de la neurotransmission, la variation d'expression des récepteurs CB1, l'implication de multiples récepteurs, des variations métaboliques, enzymatiques et allostatiques. Certes, tout concorde dans une perspective adaptative et compensatoire.

5.2.2 Schizophrénie: modèle de compréhension endocannabinoïde

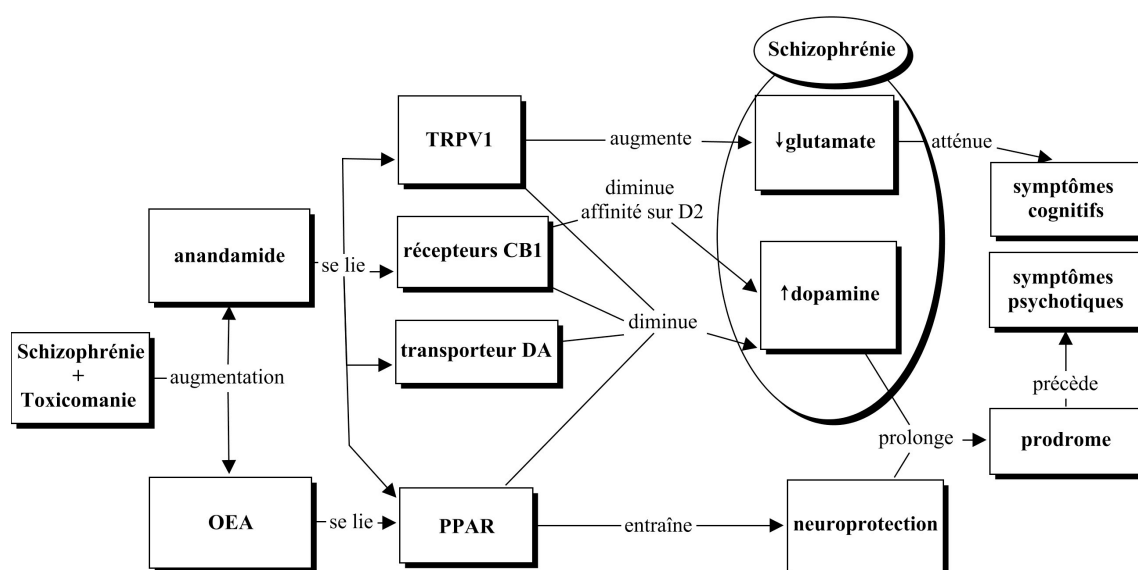
Le système ECB peut être lié à un mécanisme homéostatique qui s'active sur demande par différents stimuli. Ses effets peuvent alors être jugés protecteurs. Cependant, sans contredire cette hypothèse, une élévation adaptative peut à un certain point devenir néfaste de façon dépendante à la durée ou à la concentration des ligands. Ainsi, une trop grande élévation ou augmentation prolongée de l'anandamide peut entraîner des effets adverses dans le contrôle de la neurotransmission. En effet, au plan moléculaire, elle peut inhiber par exemple de façon importante la potentialisation des synapses et favoriser la dépression à long terme, ce qui peut avoir des effets néfastes sur les voies de transmission. Conséquemment, en clinique, nous observons des syndromes neuropsychiatriques telle que l'apparition de la schizophrénie.

Certes, l'anandamide semble un facteur protecteur pour retarder les symptômes psychotiques dans la schizophrénie. La corrélation négative de l'anandamide avec les symptômes psychotiques offre un rôle adaptatif (cf. figure 1). Le modèle hypothétique qui prévaut actuellement dans la littérature serait que l'augmentation de l'anandamide agissant sur les récepteurs CB1 abaisse indirectement la neurotransmission de D2 au niveau systémique³⁷³.

Par ailleurs, tel que décrit en introduction, notre compréhension neurochimique de la schizophrénie passe non seulement par l'hypothèse dopaminergique mais est élargie bien au-delà en incluant les différents neurotransmetteurs, neuromodulateurs et récepteurs. Nous connaissons les déficits glutamatergiques, en plus de l'abaissement GABA possiblement compensatoire en préfrontal, ce qui entraîne une désinhibition mésolimbique. Nous supposons que l'élévation de l'anandamide dans notre étude, chez les patients avec double diagnostic, viendrait se lier aux récepteurs CB1 en préfrontal et moduler à la baisse la transmission de glutamate, entraînant une exacerbation des déficits cognitifs mais une atténuation des symptômes psychotiques par stimulation des projections GABA corticolimbiques. Nous savons aussi que l'augmentation de l'anandamide agit sur les récepteurs TRPV1 ce qui augmente la relâche de glutamate, en plus d'atténuer la dopamine dans le striatum, les deux phénomènes neurochimiques sous-jacents aux symptômes cognitifs, négatifs et positifs²⁹. Nous retrouvons ainsi un mécanisme d'adaptation et de protection qui s'active avec l'élévation des ECBs sur les récepteurs TRPV1. Nous pourrions soulever que TRPV1 est le principal récepteur

responsable plus étroitement de la protection contre les symptômes psychotiques et visant une amélioration de la cognition (cf figure 5). Des phénomènes similaires se produisent avec PPAR, responsable des aspects de neuroprotection et anti-inflammatoire.

Figure 5: Modèle endocannabinoïde de la schizophrénie: mécanismes protecteurs intégrant les différents récepteurs et les systèmes dopaminergique et glutamatergique



De plus, il faut considérer les modules locaux de récepteurs, notamment dans le striatum dans un contexte de psychose. Les récepteurs hétéromères unissant les récepteurs à protéines G tels que CB1 et D2 peuvent expliquer que l'élévation de la transmission au récepteur CB1 entraîne un délai dans le déclenchement de la psychose en atténuant la décharge dopaminergique, et ce, par un mécanisme intermoléculaire. La stimulation des récepteurs CB1 diminue l'affinité de la DA aux récepteurs D2¹⁶³. Il s'agirait ici d'une interaction de type récepteur-récepteur intramembranaire, au niveau du striatum. La DA

aurait alors moins d'affinité pour D2R, ralentissant la neurotransmission dopaminergique jusqu'à l'échec ou l'épuisement de ce mécanisme et la phase aiguë.

En plus des modèles neurochimiques, nous pouvons considérer l'hypothèse ECB avec une lunette empruntée à la lipidomique. En effet, considérant que l'hypothèse eicosanoïde de la schizophrénie présuppose un abaissement de l'acide arachidonique et une altération des cascades de messagers intracellulaires, la modulation ECB, particulièrement aux récepteurs CB1, peut venir compenser ce phénomène. Il semble y avoir divers mécanismes de *turnover* phospholipidique lorsqu'il y a abaissement d'un type de phospholipides, tels que les acides gras polyinsaturés. Cette compensation peut être altérée dans la schizophrénie³⁷⁴. De la même façon, des anomalies des acides gras polyinsaturés provoquent des changements dans la transmission dopaminergique mésocorticale et mésolimbique, tels qu'un abaissement de la dopamine et des récepteurs D2 dans la région frontale³⁷⁵⁻³⁷⁷. Nous pouvons suspecter que des anomalies endocannabinoïdes entraînent également des changements de transmission monoaminergique avec un déséquilibre subséquent entre la dopamine corticale et sous-corticale. Nous savons également que les prostaglandines exercent un antagonisme fonctionnel des récepteurs D2 en stimulant la production de l'AMP cyclique^{378, 379}. *In vivo* et *in vitro*, les prostaglandines contrecarrent les effets de la dopamine alors que leur inhibition peut entraîner des symptômes psychotiques³⁸⁰. Nous pouvons ici aussi supposer un parallèle avec les ECB comme possible agents anti-dopaminergiques

endogènes. Ainsi, il ne faut pas négliger la place privilégiée des lipides à la fois dans les membranes neuronales et au coeur de la modulation synaptique.

De façon intégrative, le phénomène de récompense cérébrale est un mécanisme commun à différents processus neurobiologiques physiologiques et pathologiques et peut fournir des éléments d'explications au regroupement de la schizophrénie, toxicomanie et problèmes métaboliques chez les mêmes individus. Les endocannabinoïdes, au coeur de la récompense, offrent ainsi un lien neurobiologique entre ces tableaux cliniques. Les mécanismes de récompense sont activés dans la prise de nourriture et de drogues et impliquent des ligands et des récepteurs, eux-mêmes perturbés dans la schizophrénie. Le phénomène de *craving* pour les drogues et la nourriture activent aussi les mêmes systèmes neuroendocriniens. En résumé, ces deux phénomènes cliniques comorbides avec la schizophrénie impliquent des récepteurs communs (CB1, PPAR, TRPV1) et des ligands communs (anandamide, OEA). Cela amène une perspective unificatrice et plus globale des acteurs neurobiologiques dans la schizophrénie et procure différentes perspectives de recherche et de traitement.

6. Perspectives:

6.1 Signatures biologiques:

La lipidomique, science qui étudie les profils des lipides dans les tissus et cellules, a tout avantage à être connue du domaine biomédical. Les avancées technologiques promettent d'abord de développer de meilleures techniques pour étudier les lipides et qui permettront de tester les nombreuses hypothèses lipidiques associées au système nerveux central et à ses manifestations. Par exemple, nous pouvons envisager des signatures biologiques reliées à des vulnérabilités à la psychose ou à la toxicomanie et aussi à la réponse aux traitements. Les endocannabinoïdes servent possiblement de lien neurobiologique entre les désordres de neurotransmission des différents circuits et la théorie inflammatoire de la schizophrénie. Les ligands, tels que AEA et OEA, ainsi que l'ensemble des récepteurs décrits dans ce mémoire permettent d'envisager des marqueurs biologiques des maladies neuropsychiatriques. L'anandamide et les récepteurs CB1 sont davantage étudiés jusqu'à présent dans des contextes psychiatriques alors que les autres récepteurs, tels que PPARs et TRPV1, ont un potentiel intéressant. Or, pour mieux en comprendre l'impact et l'étendue, il faudra considérer des aspects moléculaires tels que les différents types d'interactions des lipides qui affectent l'organisation des membranes et qui agissent comme ligands. Ainsi, des approches de recherche plus efficaces seraient d'adopter une vision pluridisciplinaire en intégrant les notions de pharmacologie, de pathologie, de physiologie et en unissant davantage les connaissances des sciences fondamentales et cliniques.

L'analyse effectuée dans ce présent mémoire offre de nouvelles hypothèses endocannabinoïdes pour la schizophrénie et la toxicomanie à étudier dans des recherches ultérieures. Notamment, nous pourrions envisager les endocannabinoïdes, anandamide et OEA, comme facteurs de risque identifiables de vulnérabilité psychotique chez les personnes qui consomment et mettre cette hypothèse à l'épreuve dans des études longitudinales. De la même façon, il pourrait être fort intéressant et utile en clinique que les ECB servent de marqueurs de dépistage lors d'une suspicion de prodrome psychotique, chez des consommateurs de drogues. Pour ce faire, le modèle de compréhension proposé dans ce travail soulève une élévation endocannabinoïde en présence de toxicomanie et d'une vulnérabilité psychotique comme mécanisme protecteur hypothétique à la fois d'un hyperdopaminergisme mésolimbique, d'un hypoglutamatergisme préfrontal, d'une diminution de la synthèse GABA, et possiblement d'un état altéré du tonus endocannabinoïde. Puis, l'apparition de la phase aiguë de la schizophrénie survient lorsque ce phénomène adaptatif cède. Tout compte fait, cela s'inscrit dans les courants actuels en psychiatrie qui tendent à rechercher de meilleurs marqueurs endogènes, formant les signatures biologiques des maladies psychiatriques et leurs différentes implications.

Il faut également considérer les interactions entre les récepteurs concernés dans la schizophrénie, comme nous l'avons soulevé pour les récepteurs CB1 et D2 qui sont souvent co-exprimés dans le SNC. Toute la notion de modules locaux de récepteurs hétéromères, notamment dans le striatum permet d'envisager des marqueurs

biologiques. En effet, de telles interactions intramembranaires servent d'empreintes biochimiques permettant leur identification dans les tissus cérébraux ^{158, 381}. Les complexes macromoléculaires, tel que celui regroupant CB1-D2-A2A, doivent être aussi davantage étudiés pour en connaître les propriétés potentielles dans la psychose.

De plus, il existe aussi des perspectives de recherche sur la réactivité du système endocannabinoïde sous l'influence de différentes substances, telles que le MDMA (3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine), les amphétamines, les opiacés, la cocaïne, la kétamine, et non seulement les substances cannabinoïdes. Cela permettrait d'étayer davantage les influences potentielles de l'ensemble des drogues sur le développement de la psychose en tenant compte des altérations sérotoninergiques, glutamatergiques et dopaminergiques sur le fonctionnement endocannabinoïde. Ainsi, nous obtiendrions un modèle plus valide de l'ensemble des processus neurochimiques et neuromodulateurs qui s'activent lors d'un état psychotique sous consommation. Des essais pharmacologiques plus variés permettraient d'englober le système ECB dans les différents paradigmes neurochimiques.

De la même façon, les endocannabinoïdes peuvent fournir d'intéressantes avenues dans des conditions comorbides telles que le syndrome métabolique chez les schizophrènes. En effet, il serait nécessaire d'effectuer des recherches sur le dysfonctionnement endocannabinoïde avec différents groupes de sujets atteints de schizophrénie et avec la présence ou l'absence de perturbations métaboliques. Cela suivrait le même

raisonnement sous-jacent à ce mémoire qui relevait la grande prévalence de la toxicomanie chez les schizophrènes et qui soumettait l'hypothèse ECB à des groupes avec toxicomanie et/ou schizophrénie. Donc, le système ECB fournit des explications potentielles à la vulnérabilité à la prise de poids chez les schizophrènes préalablement à la prise de médication, en lien avec la physiopathologie de la maladie. Le système ECB offre aussi des hypothèses explicatives sur les effets métaboliques des antipsychotiques chez ces patients.

De plus, d'autres conditions qui n'ont pas été élaborées dans ce mémoire renferment des potentiels de recherche avec les endocannabinoïdes, telle que la douleur⁸³. Par exemple, l'abaissement de la douleur observé chez les schizophrènes pourrait être relié à des perturbations du système ECB³⁸². Dans un même ordre d'idées, les ligands ou les récepteurs du système ECB pourraient servir de signatures biologiques potentielles pour d'autres maladies psychiatriques et leurs conditions comorbides.

6.2 Traitement pharmacologique

Le système ECB offre des avenues pharmacologiques potentielles pour traiter des symptômes psychiatriques retrouvés dans la schizophrénie et ses principales comorbidités. Les récepteurs cannabinoïdes, les ligands ECB et les enzymes et transporteurs contrôlant les concentrations synaptiques des ECB forment des cibles intéressantes. Le défi est davantage d'optimiser un traitement en vue soit de diminuer ou

d'augmenter le système ECB ²⁹⁸. En effet, par le contrôle exercé sur les différents neurotransmetteurs, la voie thérapeutique n'est pas linéaire et devient plutôt complexe. Il faut notamment trouver une balance fonctionnelle entre le GABA et le glutamate. Il faut aussi tenir compte des conditions physiologiques, de la localisation, de l'état de la maladie, du stade aigu ou chronique, par exemple. Les types de neurotransmetteurs et récepteurs impliqués demeurent aussi fondamentaux dans l'approche et surtout dans la compréhension des conditions à traiter. La connaissance des valeurs cannabinoïdes endogènes physiologiques et pathologiques préalables au traitement est aussi essentielle. Cette perspective thérapeutique selon des valeurs endogènes variables permet d'envisager, par exemple, une approche de type agoniste partiel par des psychotropes agissant sur le système ECB. Certes, des manipulations du système ECB peuvent avoir des conséquences surprenantes, néfastes ou prometteuses et nécessitent un réel équilibre. La modulation thérapeutique peut ainsi s'effectuer au niveau des récepteurs ou des ligands du système ECB qui influencent ensuite la neurotransmission pour traiter les symptômes psychotiques et/ou un ensemble de comorbidités.

6.2.1 Traitement potentiel des symptômes psychotiques

Étant donné la grande prévalence des comorbidités chez les patients schizophrènes, une approche pharmacologique visant une efficacité combinée pour le traitement des symptômes psychotiques et des abus de substances pourrait s'avérer avantageuse. Si nous observons d'abord les antipsychotiques de première et deuxième génération déjà

utilisés sur le marché, nous savons que la quétiapine et la clozapine ont été démontrées efficaces dans le traitement des abus de substances chez des patients présentant de façon comorbide des symptômes psychotiques³⁸³. La clozapine modifie la densité des récepteurs CB1 chez le rat dans une seule région⁹⁹. La clozapine et l'haloperidol modulent le système ECB d'une façon dépendante de l'âge et du sexe pour atténuer des effets moteurs ³⁸⁴. En effet, chez les rats femelles adultes, la clozapine a atténué l'activité de CB1R dans le striatum et le cortex préfrontal alors que l'haloperidol n'a eu cet effet que dans le cortex préfrontal. Comme le nombre des récepteurs CB1 est resté similaire, cela écarte l'hypothèse de régulation négative des récepteurs sous-jacente à l'atténuation de l'activité des CB1R. Parmi plusieurs autres mécanismes, l'effet antipsychotique pourrait hypothétiquement être relié à une diminution de la fonction des récepteurs CB1. La clozapine a aussi atténué l'effet supprimeur du THC sur l'activité motrice chez les femelles adultes alors que l'haloperidol a eu cet effet chez les mâles adultes. Cependant, les deux antipsychotiques n'ont pas modifié l'activation des récepteurs CB1 chez les rats mâles adultes, dans l'ensemble des régions³⁸⁵. La risperidone a augmenté la densité des récepteurs CB1 dans plusieurs régions associées à la prise de nourriture tels que le centre de l'appétit dans l'hypothalamus, l'hippocampe et l'amygdale chez le rat ³⁸⁶. Cela soulève une explication liée à la prise de poids des schizophrènes sous traitement. L'aripiprazole est associée à une régulation positive de l'ARNm des récepteurs CB1 dans le cortex frontal chez les rats³⁸⁷ alors que chez l'humain, les antipsychotiques n'ont pas modifié l'ARNm des CB1R des patients schizophrènes par rapport aux contrôles ¹⁹³. Somme toute, les données probantes

suggèrent que la plupart des médicaments antipsychotiques actuels ne se lient pas directement aux CB1R *in vitro* ³⁸⁸. L'augmentation *in vivo* des CB1R dans le noyau accumbens chez les patients avec schizophrénie sans et avec traitement antipsychotique, nous ramène à la notion que les récepteurs CB1 peuvent être augmentés sans égard aux antipsychotiques.

Par ailleurs, hormis les antipsychotiques déjà commercialisés, des études se penchent sur des molécules agissant directement sur le système endocannabinoïde. Par exemple, des agents antagonistes des récepteurs CB1 ont entraîné des propriétés antipsychotiques dans les modèles animaux ^{389, 390}. Chez l'humain, les symptômes psychotiques n'ont pas été modifiés par le rimonabant (SR141716A; antagoniste CB1) dans une étude randomisée contrôlée avec placebo chez des patients schizophrènes avec un problème d'obésité et sans problématique de dépendance aux drogues, hormis celle liée à la nicotine³⁹¹. Il pourrait s'agir d'une moins grande efficacité des antagonistes CB1 étant donné les concentrations toniques d'endocannabinoïdes chez cette population. Cela renforce aussi l'idée que d'autres récepteurs sont impliqués. L'étude souligne aussi que le médicament a été bien toléré et n'a pas causé de symptômes psychiatriques adverses contrairement à d'autres populations, entraînant le retrait de ce médicament du marché. Cela nous renseigne de façon intrigante sur le fait que les patients schizophrènes sont possiblement moins vulnérables aux effets affectifs liés au rimonabant. Cependant, une anhédonie marquée a été observée dans le groupe sous rimonabant ce qui pourrait s'expliquer par un dysfonctionnement du système ECB influençant les voies

dopaminergiques dans le système de récompense. Dans cette même étude, le rimonabant n'a pas abaissé l'indice de masse corporelle et le bilan lipidique chez les patients avec schizophrénie ce qui peut aussi être relié à un dérèglement des cannabinoïdes dans la schizophrénie, telle que l'hyperanandaminergisme qui maintient l'obésité. Dans une autre étude, un taux plus élevé de rechute était associé à la prise de rimonabant ³⁹², possiblement dû au fait qu'il altère le modèle adaptatif protecteur. De plus, les études précliniques soulevaient les actions antipsychotiques du rimonabant par des effets dopaminergiques et glutamatergiques dans les structures corticales ^{393, 394}.

Les récepteurs CB2 et les ligands 2-AG sont beaucoup moins étudiés pour le moment en lien avec la schizophrénie. Le traitement avec la risperidone, antipsychotique atypique, chez des souris avec invalidation génique du récepteur CB2 semble normaliser des altérations moléculaires ²¹². Après un traitement oral chronique de risperidone, la réponse inhibitrice (PPI) était particulièrement améliorée chez des souris CB2KO contrairement à des souris sans invalidation. De même, la délétion de CB2 augmente l'expression génique D2R dans le cortex préfrontal et le locus ceruleus alors que la risperidone atténue l'expression de D2R dans le cortex préfrontal chez ces souris. Les récepteurs CB2 pourraient servir de nouvelle cible thérapeutique pour les comportements associés à la schizophrénie, advenant de nouvelles études pharmacologiques.

De plus, le cannabidiol (CBD), un faible antagoniste CB1 et un antagoniste du récepteur GPR55, a été étudié plus récemment. Les effets thérapeutiques du CBD sont liés à la facilitation de la neurotransmission par l'intermédiaire des ECB. Pour ce faire, le CBD pourrait notamment diminuer l'hydrolyse ou la recapture de l'anandamide ³⁰⁰. Or, le CBD est un antagoniste non-compétitif CB1R et CB2R à de faibles concentrations ³⁹⁵ et a possiblement une fonction d'agoniste inverse à ces récepteurs ³⁵⁴, comme le rimonabant. Le CBD sert aussi d'agoniste des récepteurs 5-HT2A³⁹⁶. Entre autres, cela semble permettre un effet possiblement anxiolytique et antidépresseur dans les études animales ^{397, 398}. Le CBD offre aussi un profil antipsychotique atypique car il augmente l'expression de la protéine c-Fos comme la clozapine dans les aires limbiques et le cortex préfrontal, mais pas dans le striatum dorsal ³⁹⁹. Les études préliminaires chez les patients schizophrènes ont démontré des effets thérapeutiques^{400, 401}. Il est à noter également que le cannabidiol et le THC interagissent entre eux alors que CBD semble être lui-même antagoniste du THC^{402, 403}. Le CBD et le THC renferment des effets opposés sur les symptômes psychotiques. En effet, ils modulent différemment la fonction des régions de l'hippocampe, du striatum et du cortex préfrontal pendant le processus de réponse à la saillance⁴⁰⁴. De même, le CBD et le THC modulent différemment l'activation neuronale dans les réponses émotionnelles⁴⁰⁵.

En outre, le CBD a démontré des effets sur des modèles glutamatergiques, en bloquant par exemple l'hyperactivité induite par la kétamine ⁴⁰⁶ et en altérant l'inhibition de la prépuulsion MK-801^{407, 408}. Le CBD et l'anandamide peuvent activer TRPV1Rs³⁰⁰,

récepteurs retrouvés dans l'amygdale, l'hippocampe, le cortex préfrontal et la substance grise périacqueductale ⁴⁰⁹. Il est à noter que l'activation de TRPV1 facilite la relâche de glutamate ^{410, 411} et qu'un médicament agoniste pourrait améliorer le dysfonctionnement glutamatergique du cortex préfrontal. La liaison du CBD avec TRPV1 a donc été suggérée pour expliquer son effet antipsychotique. Le CBD a aussi amélioré des déficits dans les interactions sociales dans un modèle animal similaire ⁴⁰⁸. À noter, le CBD peut aussi atténuer les symptômes psychotiques induits par la kétamine chez des volontaires sains et induits par L-Dopa chez des patients atteints de Parkinson⁴¹². Ainsi, l'avenir est prometteur pour des molécules liant non seulement les CB1R mais également les TRPV1R.

De plus, les avantages recherchés par la modification du système endocannabinoïde peuvent être à la fois la modulation des neurotransmetteurs et également l'interaction avec différents récepteurs. La modulation du glutamate revêt toute son importance étant donné la place centrale du dysfonctionnement des récepteurs NMDA dans la schizophrénie et tel que mentionné précédemment, l'altération des circuits neuronaux qui en découle. La compréhension neurochimique actuelle de la schizophrénie suit l'hypothèse de dysfonctionnement central des récepteurs NMDA qui altère ensuite certains circuits neuronaux menant aux différents symptômes. Puisque le système ECB interagit étroitement avec le système glutamatergique, toute médication modifiant le système ECB recèle des applications éventuelles dans la schizophrénie et ses comorbidités. Une approche ciblant les récepteurs TRPV1 serait aussi avantageuse étant donné que ces récepteurs facilitent la transmission glutamatergique et abaissent la

transmission dopaminergique dans des contextes de récompense. Une attention devrait être prêtée cependant à la médication qui élève les endocannabinoïdes, tel que l'anandamide, car cela augmente la puissance de liaison des ligands au TRPV1 et donc entraîne d'autres effets. Dans un modèle adaptatif de compréhension de la schizophrénie, l'activation de TRPV1 surgit plus tardivement.

De plus, certaines études soulèvent la pertinence d'une approche pharmacologique allostérique activant les récepteurs cannabinoïdes ou retardant le retrait des ECB de leurs sites d'action. De tels traitements permettraient par exemple de ralentir la progression de la maladie. Nous n'avons qu'à penser à la phase prodromique de la schizophrénie offrant une fenêtre thérapeutique pour ralentir la progression et impliquant le système ECB.

De plus, toute modification de la transmission ECB peut apporter des pistes de solution. En effet, les modifications de la recapture, de la dégradation ou de la synthèse des ligands ECB peuvent être tout aussi utiles que des actions sur les récepteurs. Par exemple, l'hydrolase d'acides gras aminés (FAAH) est responsable de la dégradation par hydrolyse de l'anandamide, OEA et PEA. Ainsi, les inhibiteurs de FAAH peuvent certainement avoir des rôles dans la neurotransmission et les approches thérapeutiques.

Parmi d'autres formes de perspectives thérapeutiques, certaines s'inscrivent dans le courant actuel de la médecine vers des approches plus individualisées. En effet, la sélection des antipsychotiques déjà commercialisés pourrait suivre des polymorphismes

individuels liés au système ECB⁴¹³. Tel que déjà mentionné dans la revue de littérature, l'association entre certains polymorphismes du système ECB et la prise de poids induite par les antipsychotiques chez des patients atteints de schizophrénie soulèvent la pertinence des approches thérapeutiques adaptées à un profil génétique. Par exemple, une telle approche considérerait un traitement différent selon la présence d'un polymorphisme du gène du récepteur CB1 (CNR1) qui module la réponse antipsychotique⁴¹⁴.

Par ailleurs, les récepteurs PPAR offrent aussi des possibilités thérapeutiques. Certains endocannabinoïdes, tel que l'anandamide, se lient directement aux PPAR. D'autres interactions potentielles semblent relier PPAR et ECB. En effet, les métabolites issus des réactions enzymatiques des ECB sont actifs aux PPAR. Ainsi, dans des contextes cliniques, la mesure de tels métabolites pourrait possiblement être fort utile. Il faut également considérer que les cannabinoïdes se liant aux récepteurs de surface entraînent une cascade de signaux intracellulaires qui activent PPAR au niveau du noyau. Au plan pharmacologique, les ECB semblent de faibles agonistes de PPAR par rapport au médicament thiazolidinedione (TZD). Il devient alors intéressant de combiner des cannabinoïdes avec des agonistes PPAR ou autres agonistes cannabinoïdes. Par exemple, une étude chez les rats s'est penchée sur OEA (agoniste PPAR- α) avec rimonabant (antagoniste récepteur CB1) qui se sont révélés plus efficaces en combinaison pour diminuer l'apport alimentaire et augmenter la perte de poids que chacun des médicaments seuls ³⁴⁹. Il ne faut pas négliger l'effet du rimonabant

directement sur PPAR- γ ³⁶⁹. Un effet positif de OEA et rimonabant représente en fait plus précisément un antagonisme CB1 et un agonisme de PPAR α et γ . Il faut certes ne pas oublier que l'anandamide active aussi PPAR γ .

De plus, les PPAR semblent aussi reliés à l'acétylcholine, permettant d'envisager des approches de traitement selon l'hypothèse de dysfonctionnement du récepteur α -7 dans la schizophrénie et de désordres cholinergiques dans la dépendance aux substances. Le développement d'agonistes partiels pour α 7 nAChR procure l'activation de récepteurs avec moins de désensibilisation. Les modulateurs (PAMs) offrent aussi d'autres avantages plutôt que des agonistes directs. En effet, une activation tonique de la transmission cholinergique limite les améliorations des symptômes observés en schizophrénie. La modulation de la signalisation cholinergique dépend aussi de la région concernée. Les PAMs mAChR semblent permettre une modulation plus physiologique et efficace⁴¹⁵. Ces agonistes et des activateurs allostériques des récepteurs nicotiques et muscariniques ont démontré une efficacité préclinique robuste dans des activités antipsychotiques et ont amélioré les fonctions cognitives. Actuellement, nous pouvons envisager leur utilisation comme candidats adjuvants.

En outre, les actions de OEA ne se limitent pas à la périphérie et peuvent réguler des réponses neuronales (par la nicotine, par exemple ¹⁸⁵). Des agonistes de PPAR- α , tels que les fibrates, sont déjà commercialisés pour le traitement des troubles lipidiques mais ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique. Il pourrait s'avérer fort intéressant

d'analyser les changements du métabolisme des lipides cérébraux ou autres lipides endogènes pouvant modifier la neurotransmission, ce qui pourrait fournir une avenue thérapeutique. Certains déficits cognitifs liés à la prise chronique de cannabis dans un modèle avec des rats adolescents sont associés à des altérations de l'expression de la protéine Fos dans des régions impliquées dans la schizophrénie⁴¹⁶. Un modèle préclinique a utilisé des agonistes des récepteurs α -7-ACh nicotiques qui ont induit la protéine Fos dans les régions antérieures du cortex de façon similaire aux antipsychotiques atypiques, d'où l'intérêt d'une possible activité antipsychotique, en plus d'une amélioration des déficits cognitifs⁴¹⁷⁻⁴¹⁹. Le développement de nouveaux ligands agonistes α 7nAChR fournit des modèles animaux. Les trouvailles précliniques suggèrent l'activation sélective de α 7nAChRs pour cibler différents domaines de la schizophrénie et pour mener éventuellement à des essais cliniques qui fournissent la preuve de ce concept et valident l'hypothèse cholinergique de la schizophrénie⁴²⁰.

Dans les études pharmacologiques relevées dans ce mémoire, nous pouvons nous interroger à savoir si les sujets avaient préalablement un profil endocannabinoïde altéré en raison de phénomènes pathologiques et/ou physiologiques. Cela peut entraîner certains biais dans l'interprétation des variations après la prise. Par exemple, les indications de traitement des agonistes PPAR sont l'obésité, la dyslipidémie et le diabète non insulino-dépendant, des conditions préalablement associées à un hyperanandaminergisme.

Certes, les recherches tendent à développer des approches pharmacologiques selon l'ensemble des hypothèses étiopathogéniques de la schizophrénie. Ainsi, elles ciblent non seulement les désordres des systèmes de neurotransmission mais également des changements phospholipidiques des membranes neuronales.

L'étude des lipides fournit aussi des guides de traitements directement reliés aux acides gras. Un déséquilibre intramembranaire entre les acides gras polyinsaturés essentiels et les acides gras saturés semble relié aux symptômes psychotiques et aux altérations cognitives dans la schizophrénie. De plus, les niveaux d'acides gras intramembranaires des érythrocytes prédisent aisément la réponse au traitement antipsychotique atypique, olanzapine ou perospirone, dans la schizophrénie chronique ⁴²¹. Dans un même ordre d'idées, nous pouvons effectuer une cartographie métabolomique suite aux effets des antipsychotiques atypiques dans la schizophrénie⁴²². Sachant que les antipsychotiques actuels favorisent la prise de poids et la dyslipidémie, une telle cartographie peut renseigner sur les effets secondaires métaboliques mais aussi sur les mécanismes sous-jacents à la maladie et son rétablissement. Des altérations lipidiques préalables au traitement ont été relevées et améliorées avec la réponse au traitement en aigu. Des études randomisées de corrélation entre les changements lipidiques et les issues cliniques laissent envisager des marqueurs de la réponse aux antipsychotiques.

Nous pouvons également considérer des approches selon la théorie inflammatoire dans la schizophrénie, considérant que PGE₂, marqueur inflammatoire, est liée au

métabolisme du glutamate. L'hypoglutamatergisme associé aux déficits cognitifs dans la schizophrénie et combiné à un désordre inflammatoire suggère des traitements potentiels par des mécanismes modulateurs de l'inflammation. Une étude a observé l'effet de COX-2 comme adjuvant à la risperidone dans la schizophrénie⁴²³. Plusieurs antipsychotiques modulent effectivement des marqueurs inflammatoires ⁴²⁴. Des agonistes PPAR- γ activent aussi des voies anti-oxydantes comme celle du glutathion, qui est abaissé dans le cerveau de schizophrènes décédés^{425,23}. Cela rappelle que le glutamate est étroitement lié aux cellules gliales. Une approche ciblant les voies glutamatergiques et la microglie dans la schizophrénie s'avérerait avantageuse. De la même façon, par leurs actions sur PPAR et leurs interactions avec le système glutamatergique, les ECB proposent des modalités futures. Les agonistes PPAR- γ augmentent l'activité du transporteur à glutamate microglial, EAAT-2, ce qui protège de l'excès de glutamate⁴²⁶. Ces effets bénéfiques de l'activation des récepteurs PPAR sur le métabolisme et la neurotransmission du glutamate permettent des défis en recherche en psychiatrie ainsi que de nouveaux modèles animaux⁴²⁷. Les récepteurs PPARs offrent des mécanismes au niveau central et périphérique. Les thiazolidinediones sont de puissants agonistes PPAR- γ . Ils agissent sur la neuroinflammation, la signalisation de l'insuline, l'activité glucocorticoïde et le métabolisme cellulaire ce qui permet des approches potentielles pour les déficits cognitifs et troubles métaboliques accompagnant les psychoses⁴²⁸. Le mécanisme d'action sous-jacent semble lié à la genèse mitochondriale qui permet la synaptogénèse et l'augmentation de la densité des épines dendritiques⁴²⁹. Étant donné les anomalies des mitochondries et des déficits de la

phosphorylation oxydative dans la schizophrénie, ces approches sont fort intéressantes⁴³⁰.

Nous considérons les altérations inflammatoires et ECB comme des mécanismes homéostatiques de protection dans la schizophrénie, secondaires à d'autres étiologies primaires. L'anandamide a notamment des propriétés anti-inflammatoires par l'activation de PPAR- γ alors que OEA et PEA ont des effets de neuroprotection par PPAR- α ⁴³¹. Notre compréhension des PPAR et l'ensemble des voies inflammatoires et endocannabinoïdes permet de proposer principalement des approches thérapeutiques adjuvantes pour le moment. En effet, ce sont des mécanismes neuroprotecteurs avérés efficaces. Des traitements multimodaux ou des combinaisons de molécules à différents sites d'action offrent des solutions.

De plus, les avancées au plan moléculaire suggèrent de nouveaux types d'approches. Par exemple, les modules locaux composés d'hétéromères des récepteurs CB1 et D2 sur les épines dans le striatum proposent une influence significative de la plasticité synaptique. Ils permettent d'entrevoir de nets avantages car l'activation d'une unité peut changer radicalement la capacité de liaison de chacun des récepteurs impliqués. Ainsi, nous pouvons espérer le développement de médicaments ciblant des hétéromères, notamment dans le striatum pour la psychose.

Ainsi, la relation entre les ECB et leurs effets sur les récepteurs est plutôt complexe et une analyse linéaire se prive de multiples subtilités. Il faudra davantage d'études moléculaires et animales avant de mieux comprendre les phénomènes cliniques en lien avec les ECB et d'y adapter une pharmacopée appropriée.

6.2.2 Traitement potentiel de la dépendance aux drogues

La dépendance aux drogues est reliée à des phénomènes neurobiologiques sous-jacents à la consommation chronique, aux effets de récompense, à des comportements motivés et aux rechutes. Ces dernières sont elles-mêmes secondaires à une exposition à la substance, à des indices rappelant la substance ou à différents stress⁴³²⁻⁴³⁵. Puis, nous ne pouvons écarter la considération des symptômes psychotiques pouvant être associés à la consommation. Comme décrit précédemment, une vulnérabilité psychotique sous consommation peut se refléter par les marqueurs endocannabinoïdes.

Certaines approches pharmacologiques peuvent cibler l'effet de récompense neurobiologique dans le contexte de dépendance. En utilisant des approches ciblant le système ECB pour traiter des problématiques en toxicomanie, il faut considérer aussi les mécanismes associés aux changements de l'activité dopaminergique comme le renforcement, les rechutes, le *craving* lié au sevrage et à la dysphorie. Une voie de normalisation dopaminergique est alors recherchée. Le rimonabant diminue la récompense suite à la prise de substances en diminuant à la fois la réponse neurale,

visible à la résonance magnétique fonctionnelle et diminue aussi l'expérience subjective liée à la consommation ⁴³⁶. Cependant, le rimonabant n'est pas un antagoniste pur et agirait aussi comme agoniste inverse, entraînant malheureusement des effets psychiatriques adverses.

Par ailleurs, les ECB ont le rôle bien établi d'augmenter les comportements de recherche de drogues, de motivation et de rechute de consommation de cannabis, d'alcool, de nicotine et d'opiacés ^{316, 437-439}. Particulièrement pour la consommation de cocaïne, la littérature offre des implications controversées concernant la récompense et les endocannabinoïdes^{328, 440-443}, mais on leur confère un rôle primordial dans la rechute. Il semble y avoir une particularité de la rechute déclenchée par le stress qui n'est pas atténuée par des antagonistes cannabinoïdes³²⁵. À l'inverse, des antagonistes cannabinoïdes provoqueraient plus souvent une atténuation de la rechute provoquée directement par la cocaïne ou un indice de cette substance ^{444, 445}, malgré des résultats contradictoires chez la souris ³²⁴. Un agoniste cannabinoïde entraînerait plutôt une recherche de cocaïne chez des rats dans un paradigme d'auto-administration. Les ECB sont étroitement impliqués dans les circuits de neurotransmission. Nous pouvons soulever différentes limites méthodologiques dans des études animales sur l'approche pharmacologique des abus de substances utilisant différents modèles de stress, mesures de rechutes, races d'animaux et différentes drogues et concentrations.

Il faut aussi considérer chez l'animal et chez l'humain que la toxicomanie chronique entraîne un hypodopaminergisme et hypoglutamatergisme. Les approches thérapeutiques ne devraient donc pas être les mêmes que celles chez les patients avec double diagnostic. Parmi les médicaments développés pour le traitement de la dépendance à l'alcool, il y a des antagonistes aux récepteurs opioïdes^{446, 447} et plus récemment le topiramate⁴⁴⁸ et l'ondansetron⁴⁴⁹. De plus, il y a un potentiel thérapeutique à travers des stratégies de contrôle par le glutamate des actions de la ghreline dans le système dopaminergique mésolimbique³⁴⁴. L'acamprosate, un modulateur de NMDA, est un médicament qui agit au niveau central pour ramener une activité normale de la neurotransmission glutamatergique altérée dans l'exposition chronique à l'alcool⁴⁵⁰. La N-acetylcystéine offre elle aussi des solutions pour la cocaïne et l'héroïne par l'intermédiaire du glutamate. De façon intéressante, elle restaure la relâche de glutamate et la capacité à induire la dépression et potentialisation à long terme⁴⁵¹ et elle produit une réduction de la recherche de drogues qui persiste plus d'un mois après l'arrêt des traitements.

De plus, devant le désordre homéostatique du glutamate dans la dépendance aux drogues et aussi du déficit de transmission du récepteur NMDA dans la schizophrénie, des approches communes peuvent être envisagées. Un agoniste de mGluR2/3 semble inhiber la recherche de drogues (cocaïne et héroïne)⁴⁵²⁻⁴⁵⁴. Un agoniste mGluR2/3 (LY404039) a abaissé les symptômes psychotiques dans un essai clinique randomisé de phase II⁴⁵⁵, chez des patients schizophrènes dans une étude à double-insu et contrôlée

avec placebo et olanzapine. Les résultats ont rapporté une amélioration significative des symptômes positifs, négatifs et cognitifs par rapport au placebo ainsi qu'une absence de différence entre LY404039 et l'olanzapine pour l'ensemble des symptômes. Les bénéfices de diminuer le glutamate dans la synapse par agonisme métabotrope glutamatergique demeurent intrigants. Une hypothèse émise est que l'hypofonctionnement du récepteur NMDA entraîne peut-être une augmentation compensatoire futile du glutamate dans la fente synaptique pour compenser l'hypofonctionnement. Ce glutamate en excès agit possiblement à travers les récepteurs non-NMDA (AMPA et kaïnate). Par des méthodes de microdialyse, il a été démontré que la kétamine systémique augmente la relâche de glutamate dans le cortex préfrontal²¹. Un antagoniste AMPA/kaïnate systémique (LY293558) améliore les déficits cognitifs induits par la kétamine. Ceci nous laisse envisager que les troubles cognitifs retrouvés dans un modèle d'hypofonctionnement de NMDA résultent en fait d'une hyperactivité du glutamate aux récepteurs non-NMDA. Ainsi, l'agoniste métabotrope pré-synaptique pourrait diminuer le glutamate et réduirait les symptômes.

En outre, quelques données suggèrent à l'heure actuelle un rôle pour le groupe II des récepteurs mGlu dans la physiopathologie de la schizophrénie²²⁵. Les neurones pyramidaux et non-pyramidaux expriment mGluR2. Les récepteurs mGluR2/3 sont exprimés sur les neurones à dopamine chez l'humain, contrairement aux rats, et leur ARNm est plus élevé dans la matière blanche du cortex préfrontal par rapport aux contrôles et ce, de façon significative. Ce qui est cohérent avec les anomalies de la

matière blanche dans la schizophrénie. Globalement, les récepteurs mGlu 2 et 3 se retrouvent dans la région limbique, l'amygdale, l'hippocampe, le cortex préfrontal. Puisque mGluR2 et 3 sont exprimés sur les astrocytes et en présynaptique dans le cerveau humain ⁴⁵⁶, ils ont sans doute un rôle unique dans ce circuit de la psychose. Les projections glutamatergiques corticostriées peuvent stimuler les récepteurs mGlu sur les terminaux dopaminergiques dans le striatum⁴⁵⁷. Cependant, la sélectivité des agonistes mGluR a été remise en cause par des études pharmacologiques du laboratoire de P. Seeman⁴⁵⁸. En effet, les agonistes mGluR présentent aussi une grande affinité pour les récepteurs D2. Cela rappelle que la phencyclidine et la kétamine ont une action synergique antagoniste NMDA et agoniste DA sur les récepteurs D2 pré et post-synaptiques avec une haute affinité. Par exemple, l'halopéridol est un antipsychotique efficace dans les psychoses induites par PCP, ce qui est compatible avec une action agoniste D2 de la kétamine, expliquant notamment les symptômes psychotiques. En utilisant LY379268, une molécule similaire à LY404039 non commercialisée, Seeman a bien entendu confirmé qu'ils étaient agonistes mGluR 2/3 mais, fait intéressant, il a découvert un agonisme partiel D2 pour cette molécule. Cela se résumait à un effet comparable à celui des agonistes partiels de la dopamine, tel l'aripiprazole, un nouvel antipsychotique démontré efficace. Les constantes de dissociation pour D2 et pour mGluR ont été comparées révélant une affinité comparable pour les deux récepteurs, excluant une spécificité. L'efficacité similaire du LY404039 avec l'olanzapine dans l'étude de Patil peut ainsi s'expliquer⁴⁵⁵. Les constantes de dissociation de LY379268 (et

LY404039) sont de 15nM au récepteur Glu et 20-30nM au récepteur D2. Cela prédit une dose efficace de 100 mg, cohérent avec la dose utilisée par Patil (40mg bid).

Par ailleurs, les perspectives de recherche sont multiples. En génomique, le récepteur CB1 est identifié comme gène candidat potentiel et déterminant pour la vulnérabilité à la dépendance aux drogues⁴⁵⁹. Il y aussi des pistes de recherche avec les orexines hypothalamiques qui sont directement impliquées dans les phénomènes de récompense aux drogues et de rechute à travers des comportements de recherche de drogues. Les orexines sont aussi étroitement liées au système ECB alors que les ECB facilitent les effets des neurones relâchant des orexines et projetant vers le noyau accumbens et l'aire tegmentaire ventrale⁴⁶⁰.

En somme, comme les cannabinoïdes endogènes influencent la relâche de plusieurs neurotransmetteurs tels que le GABA, le glutamate, la noradrénaline, l'acétylcholine et la dopamine⁴⁶¹ et que les récepteurs cannabinoïdes sont présents dans divers systèmes centraux et périphériques, il n'est pas surprenant que l'effet d'agonistes ou antagonistes du système cannabinoïde entraînent des effets contradictoires, complexes et intrigants. Les perspectives pharmacologiques passent donc par une meilleure compréhension du rôle des endocannabinoïdes dans des états physiologiques, dans la pathophysiologie des conditions psychiatriques, en plus de considérer les influences multiples des ligands et récepteurs endogènes entre eux.

Bref, les directions de recherche devront considérer plus particulièrement la signalisation endocannabinoïde dans différentes structures cérébrales et sous-populations neuronales. Le rôle de chacun des ligands devra être mis en relief dans une perspective non seulement homéostatique au sein du système concerné mais également dans une vision plus globale allostatique. L'allostasie entre les phénomènes chroniques peut entraîner une surcharge et l'analyse des interactions des systèmes neuroendocriniens impliquant les endocannabinoïdes pourra permettre des modifications thérapeutiques par ce méta-système.

7. Conclusion

La schizophrénie implique plusieurs désordres de neurotransmission, notamment un hyperdopaminergisme dans le système limbique et un hypoglutamatergisme dans le cortex préfrontal. La prévalence des abus de substances dans cette population est notable et présente des défis concernant à la fois des phénomènes physiopathologiques et également des possibilités thérapeutiques. Particulièrement, le cannabis est une substance de choix chez les patients schizophrènes, précipitant les rechutes et exacerbant les symptômes psychotiques. Nous avons donc supposé une implication du système endocannabinoïde dans la schizophrénie.

Le système endocannabinoïde est un système complexe composé de ligands de nature lipidique et de récepteurs. Il est notamment impliqué dans la neuromodulation, le métabolisme et la récompense. Au plan neurobiologique, la consommation de drogues, l'obésité et la schizophrénie semblent tous des phénomènes reliés en partie aux endocannabinoïdes et, au plan clinique, comorbides. Le système de récompense impliquant les endocannabinoïdes est un élément explicatif majeur.

Plusieurs données probantes en recherche fondamentale et clinique viennent appuyer les désordres endocannabinoïdes dans la schizophrénie, que ce soit par exemple par des données en génétique, par des modifications des récepteurs visibles dans des études par imagerie ou par des perturbations des ligands plasmatiques ou dans le liquide céphalo-rachidien. Au plan symptomatologique, entre autres, l'anandamide est négativement

corrélé aux symptômes psychotiques, eux-mêmes reliés à une décharge dopaminergique dans le cortex limbique. Cette élévation anandaminergique entraînerait un rôle de protection en retardant le déclenchement de la psychose aiguë durant le prodrome.

Notre recherche a permis d'observer un effet miroir de la consommation sur les valeurs endocannabinoïdes selon la présence ou l'absence de psychose. Cela a permis de considérer possiblement l'élévation de l'anandamide et de l'OEA comme des marqueurs de vulnérabilité à la psychose dans un contexte de consommation. Étant donné que les valeurs des endocannabinoïdes n'ont pas changé durant le traitement et donc suite à l'amélioration des symptômes psychotiques et de la consommation, nos résultats suggéraient des altérations liés au trait de la consommation et non à l'état. Nous soulevons un mécanisme de compensation par rapport à l'état hyperdopaminergique des patients avec double diagnostic alors que les toxicomanes ont un hypodopaminergisme dans un contexte de consommation chronique. Un mécanisme d'agonisme partiel des drogues selon les valeurs endocannabinoïdes n'est pas négligeable et reste à être élucider. Certes, l'élévation de AEA et OEA et leurs actions sur divers récepteurs autres que CB1 est à considérer, tels que TRPV1 et PPAR. Des études longitudinales seront nécessaires pour comprendre les mécanismes neurobiologiques sous-jacents à ce phénomène miroir chez les consommateurs avec ou sans la présence de schizophrénie.

Devant cette revue de la littérature et avec nos résultats de recherche, nous avons pu considérer dans ce mémoire plusieurs influences, que ce soit des mécanismes

moléculaires ou des phénomènes cliniques. Nous avons considéré notamment quelques hypothèses au sujet des interactions entre les ECB et les systèmes de neurotransmission altérés dans la schizophrénie. Au niveau préfrontal, selon l'hypofonctionnement glutamatergique retrouvé dans la schizophrénie, nous avons pu faire le parallèle hypothétique avec un dysfonctionnement GABA et cannabinoïde et entraînant la décharge dopaminergique. La densité variable des récepteurs CB1 selon les populations des schizophrènes et les populations de toxicomanes a aussi été soulevée comme phénomène explicatif. L'implication de nombreux récepteurs cannabinoïdes et non-cannabinoïdes a été détaillée. Dans le striatum, nous avons observé les phénomènes de récompense incluant les ECB. Nous avons aussi noté le rôle des mécanismes d'interactions entre différents récepteurs. De plus, nous avons bien sûr évalué l'influence de la consommation sur la neurotransmission en aigu et chronique et les effets synaptiques à long terme de toutes ces interactions. Cela nous a permis d'arrimer les données dans la littérature avec nos connaissances cliniques, notamment l'évolution longitudinale de la schizophrénie et ses différentes phases tel que le prodrome.

Le modèle endocannabinoïde de la schizophrénie que nous retenons est une compréhension compensatoire et homéostatique liée aux perturbations des ligands ECB. Les effets d'atténuation de la dopamine semblent nécessiter l'intervention des récepteurs TRPV1, intervention nous apparaissant primordiale à la protection psychotique. Les récepteurs PPAR semblent davantage intervenir dans un mode anti-inflammatoire. Nous

avons ainsi proposé un schéma intégratif de notre propre modèle cannabinoïde de la schizophrénie.

Finalement, ce mémoire offre des perspectives de recherche clinique et fondamentale. Le développement des connaissances concernant le système endocannabinoïdes nous permettra sans doute d'étayer des signatures biologiques avec une utilité clinique éventuelle. Nous pouvons envisager également une amélioration des approches de traitement des symptômes psychotiques et aussi de meilleurs traitements pour les problématiques de consommation, en considérant la vulnérabilité à la psychose. En somme, notre connaissance des endocannabinoïdes et leurs implications dans la schizophrénie n'est qu'un commencement et ouvre la voie à de nombreuses avenues de recherche.

Bibliographie

1. Perala J, Suvisaari J, Saarni SI, et al. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry*. Jan 2007;64(1): 19-28.
2. Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science*. Nov 1 1996;274(5288):740-743.
3. American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV., American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV-TR*. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000.
4. Keefe RS. Cognitive deficits in patients with schizophrenia: effects and treatment. *J Clin Psychiatry*. 2007;68 Suppl 14:8-13.
5. Green MF. Cognitive impairment and functional outcome in schizophrenia and bipolar disorder. *J Clin Psychiatry*. 2006;67 Suppl 9:3-8; discussion 36-42.
6. Green MF. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? *Am J Psychiatry*. Mar 1996;153(3):321-330.
7. Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*. Dec 2003;60(12): 1187-1192.
8. Freedman R, Adams CE, Adler LE, et al. Inhibitory neurophysiological deficit as a phenotype for genetic investigation of schizophrenia. *Am J Med Genet*. Spring 2000;97(1):58-64.
9. Laruelle M, Abi-Dargham A. Dopamine as the wind of the psychotic fire: new evidence from brain imaging studies. *J Psychopharmacol*. Dec 1999;13(4): 358-371.
10. Laruelle M. Imaging dopamine transmission in schizophrenia. A review and meta-analysis. *Q J Nucl Med*. Sep 1998;42(3):211-221.
11. Laruelle M, Abi-Dargham A, Gil R, Kegeles L, Innis R. Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. *Biol Psychiatry*. Jul 1 1999;46(1):56-72.
12. Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. Jul 1987;44(7):660-669.
13. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*. Nov 1991;148(11):1474-1486.
14. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull*. May 2009;35(3):549-562.
15. Coyle JT. The GABA-glutamate connection in schizophrenia: which is the proximate cause? *Biochem Pharmacol*. Oct 15 2004;68(8):1507-1514.
16. Coyle JT, Tsai G. NMDA receptor function, neuroplasticity, and the pathophysiology of schizophrenia. *Int Rev Neurobiol*. 2004;59:491-515.
17. Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry*. Sep 2001;158(9):1367-1377.
18. Kudoh A. Perioperative management for chronic schizophrenic patients. *Anesth Analg*. Dec 2005;101(6):1867-1872.

19. Kudoh A, Ishihara H, Matsuki A. Current perception thresholds and postoperative pain in schizophrenic patients. *Reg Anesth Pain Med.* Sep-Oct 2000;25(5):475-479.
20. Tsai G, van Kammen DP, Chen S, Kelley ME, Grier A, Coyle JT. Glutamatergic neurotransmission involves structural and clinical deficits of schizophrenia. *Biol Psychiatry.* Oct 15 1998;44(8):667-674.
21. Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D. Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci.* Apr 15 1997;17(8):2921-2927.
22. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett.* Dec 1980;20(3):379-382.
23. Schwarcz R, Rassoulpour A, Wu HQ, Medoff D, Tamminga CA, Roberts RC. Increased cortical kynurenate content in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* Oct 1 2001;50(7):521-530.
24. Erhardt S, Engberg G. Increased phasic activity of dopaminergic neurones in the rat ventral tegmental area following pharmacologically elevated levels of endogenous kynurenic acid. *Acta Physiol Scand.* May 2002;175(1):45-53.
25. Coyle JT. The nagging question of the function of N-acetylaspartylglutamate. *Neurobiol Dis.* 1997;4(3-4):231-238.
26. Sumiyoshi T, Anil AE, Jin D, Jayatilake K, Lee M, Meltzer HY. Plasma glycine and serine levels in schizophrenia compared to normal controls and major depression: relation to negative symptoms. *Int J Neuropsychopharmacol.* Mar 2004;7(1):1-8.
27. Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, et al. Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* Jun 2003;60(6):572-576.
28. Sesack SR, Carr DB, Omelchenko N, Pinto A. Anatomical substrates for glutamate-dopamine interactions: evidence for specificity of connections and extrasynaptic actions. *Ann N Y Acad Sci.* Nov 2003;1003:36-52.
29. Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA. Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophr Res.* Dec 2008;106(2-3):89-107.
30. Abi-Dargham A. Alterations of serotonin transmission in schizophrenia. *Int Rev Neurobiol.* 2007;78:133-164.
31. Adler LE, Waldo MC, Freedman R. Neurophysiologic studies of sensory gating in schizophrenia: comparison of auditory and visual responses. *Biol Psychiatry.* Dec 1985;20(12):1284-1296.
32. Adler LE, Hoffer LD, Wiser A, Freedman R. Normalization of auditory physiology by cigarette smoking in schizophrenic patients. *Am J Psychiatry.* Dec 1993;150(12):1856-1861.

33. Craddock N, Lendon C. Chromosome Workshop: chromosomes 11, 14, and 15. *Am J Med Genet.* Jun 18 1999;88(3):244-254.
34. Freedman R, Coon H, Myles-Worsley M, et al. Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jan 21 1997;94(2):587-592.
35. Levey AI, Kitt CA, Simonds WF, Price DL, Brann MR. Identification and localization of muscarinic acetylcholine receptor proteins in brain with subtype-specific antibodies. *J Neurosci.* Oct 1991;11(10):3218-3226.
36. Levey AI, Edmunds SM, Koliatsos V, Wiley RG, Heilman CJ. Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in rat hippocampus and regulation by cholinergic innervation. *J Neurosci.* May 1995;15(5 Pt 2):4077-4092.
37. Marino MJ, Rouse ST, Levey AI, Potter LT, Conn PJ. Activation of the genetically defined m1 muscarinic receptor potentiates N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor currents in hippocampal pyramidal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Sep 15 1998;95(19):11465-11470.
38. Rouse ST, Gilmor ML, Levey AI. Differential presynaptic and postsynaptic expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptors at the perforant pathway/granule cell synapse. *Neuroscience.* Sep 1998;86(1):221-232.
39. Tsai G, Coyle JT. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2002;42:165-179.
40. Anagnostaras SG, Murphy GG, Hamilton SE, et al. Selective cognitive dysfunction in acetylcholine M1 muscarinic receptor mutant mice. *Nat Neurosci.* Jan 2003;6(1):51-58.
41. Gerber DJ, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Huang SY, Caron MG, Tonegawa S. Hyperactivity, elevated dopaminergic transmission, and response to amphetamine in M1 muscarinic acetylcholine receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Dec 18 2001;98(26):15312-15317.
42. Miyakawa T, Yamada M, Duttaroy A, Wess J. Hyperactivity and intact hippocampus-dependent learning in mice lacking the M1 muscarinic acetylcholine receptor. *J Neurosci.* Jul 15 2001;21(14):5239-5250.
43. Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci.* Apr 2005;6(4):312-324.
44. Jarskog LF, Miyamoto S, Lieberman JA. Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annu Rev Med.* 2007;58:49-61.
45. Lewis DA, Gonzalez-Burgos G. Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. *Nat Med.* Sep 2006;12(9):1016-1022.
46. Cronenwett WJ, Csernansky J. Thalamic pathology in schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci.* 2010;4:509-528.
47. Smith MJ, Wang L, Cronenwett W, Mamah D, Barch DM, Csernansky JG. Thalamic morphology in schizophrenia and schizoaffective disorder. *J Psychiatr Res.* Mar 2011;45(3):378-385.

48. Yeragani VK. The incidence of abnormal dexamethasone suppression in schizophrenia: a review and a meta-analytic comparison with the incidence in normal controls. *Can J Psychiatry*. Mar 1990;35(2):128-132.
49. Bremner JD. Does stress damage the brain? *Biol Psychiatry*. Apr 1 1999;45(7):797-805.
50. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators: the good and bad sides of the response to stress. *Metabolism*. Jun 2002;51(6 Suppl 1):2-4.
51. Pantelis C, Velakoulis D, McGorry PD, et al. Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *Lancet*. Jan 25 2003;361(9354):281-288.
52. Condray R, Yao JK. Cognition, dopamine and bioactive lipids in schizophrenia. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2011;3:298-330.
53. Benjamins J, Hajra A, Agranoff B. Basic neurochemistry, molecular, cellular and medical aspects. Lipids. *Elsevier, NY*. 2006;7th Ed.
54. Fenton WS, Hibbeln J, Knable M. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. Jan 1 2000;47(1):8-21.
55. Skosnik PD, Yao JK. From membrane phospholipid defects to altered neurotransmission: is arachidonic acid a nexus in the pathophysiology of schizophrenia? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. Dec 2003;69(6):367-384.
56. Bazan NG. The onset of brain injury and neurodegeneration triggers the synthesis of docosanoid neuroprotective signaling. *Cell Mol Neurobiol*. Jul-Aug 2006;26(4-6):901-913.
57. Pecchi E, Dallaporta M, Jean A, Thirion S, Troadec JD. Prostaglandins and sickness behavior: old story, new insights. *Physiol Behav*. Jun 22 2009;97(3-4):279-292.
58. Kaiya H, Uematsu M, Ofuji M, et al. Elevated plasma prostaglandin E2 levels in schizophrenia. *J Neural Transm*. 1989;77(1):39-46.
59. Martinez-Gras I, Perez-Nievas BG, Garcia-Bueno B, et al. The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 and its nuclear receptor PPARgamma are decreased in schizophrenia. *Schizophr Res*. May 2011;128(1-3):15-22.
60. Das I, Khan NS. Increased arachidonic acid induced platelet chemiluminescence indicates cyclooxygenase overactivity in schizophrenic subjects. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. Mar 1998;58(3):165-168.
61. Akhondzadeh S, Tabatabaee M, Amini H, Ahmadi Abhari SA, Abbasi SH, Behnam B. Celecoxib as adjunctive therapy in schizophrenia: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Schizophr Res*. Feb 2007;90(1-3):179-185.
62. Yao JK, Sistilli CG, van Kammen DP. Membrane polyunsaturated fatty acids and CSF cytokines in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. Dec 2003;69(6):429-436.

63. Oken RJ, Schulzer M. At issue: schizophrenia and rheumatoid arthritis: the negative association revisited. *Schizophr Bull.* 1999;25(4):625-638.
64. Davis GC, Buchsbaum MS, van Kammen DP, Bunney WE, Jr. Analgesia to pain stimuli in schizophrenics and its reversal by naltrexone. *Psychiatry Res.* Jul 1979;1(1):61-69.
65. Doorduyn J, de Vries EF, Willemsen AT, de Groot JC, Dierckx RA, Klein HC. Neuroinflammation in schizophrenia-related psychosis: a PET study. *J Nucl Med.* Nov 2009;50(11):1801-1807.
66. van Berckel BN, Bosson MG, Boellaard R, et al. Microglia activation in recent-onset schizophrenia: a quantitative (R)-[11C]PK11195 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry.* Nov 1 2008;64(9):820-822.
67. Bagary MS, Symms MR, Barker GJ, Mutsatsa SH, Joyce EM, Ron MA. Gray and white matter brain abnormalities in first-episode schizophrenia inferred from magnetization transfer imaging. *Arch Gen Psychiatry.* Aug 2003;60(8):779-788.
68. Price G, Cercignani M, Parker GJ, et al. Abnormal brain connectivity in first-episode psychosis: a diffusion MRI tractography study of the corpus callosum. *Neuroimage.* Apr 1 2007;35(2):458-466.
69. Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry.* Apr 15 2008;63(8):801-808.
70. Monji A, Kato T, Kanba S. Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* Jun 2009;63(3):257-265.
71. Stephan KE, Friston KJ, Frith CD. Dysconnection in schizophrenia: from abnormal synaptic plasticity to failures of self-monitoring. *Schizophr Bull.* May 2009;35(3):509-527.
72. Jablensky A. Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2000;250(6):274-285.
73. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci.* Nov 2003;4(11):873-884.
74. Piomelli D, Astarita G, Rapaka R. A neuroscientist's guide to lipidomics. *Nat Rev Neurosci.* Oct 2007;8(10):743-754.
75. Schreiber D, Harlfinger S, Nolden BM, et al. Determination of anandamide and other fatty acyl ethanolamides in human serum by electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Biochem.* Feb 15 2007;361(2):162-168.
76. Burns HD, Van Laere K, Sanabria-Bohorquez S, et al. [18F]MK-9470, a positron emission tomography (PET) tracer for in vivo human PET brain imaging of the cannabinoid-1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 5 2007;104(23):9800-9805.
77. Buczynski MW, Parsons LH. Quantification of brain endocannabinoid levels: methods, interpretations and pitfalls. *Br J Pharmacol.* Jun 2010;160(3):423-442.
78. Potvin S, Kouassi E, Lipp O, et al. Endogenous cannabinoids in patients with schizophrenia and substance use disorder during quetiapine therapy. *J Psychopharmacol.* May 2008;22(3):262-269.

79. Jemal M, Ouyang Z, Zhao W, Zhu M, Wu WW. A strategy for metabolite identification using triple-quadrupole mass spectrometry with enhanced resolution and accurate mass capability. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2003;17(24):2732-2740.
80. Giuffrida A, Leweke FM, Gerth CW, et al. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology.* Nov 2004;29(11):2108-2114.
81. Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* Sep 2006;58(3):389-462.
82. Riebe CJ, Wotjak CT. Endocannabinoids and stress. *Stress.* Jul 2011;14(4):384-397.
83. Guindon J, Hohmann AG. The endocannabinoid system and pain. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* Dec 2009;8(6):403-421.
84. Thomas MJ, Kalivas PW, Shaham Y. Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction. *Br J Pharmacol.* May 2008;154(2):327-342.
85. Kauer JA, Malenka RC. Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci.* Nov 2007;8(11):844-858.
86. Maccarrone M, De Petrocellis L, Bari M, et al. Lipopolysaccharide downregulates fatty acid amide hydrolase expression and increases anandamide levels in human peripheral lymphocytes. *Arch Biochem Biophys.* Sep 15 2001;393(2):321-328.
87. De Marchi N, De Petrocellis L, Orlando P, Daniele F, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids Health Dis.* Aug 19 2003;2:5.
88. Matias I, Bisogno T, Di Marzo V. Endogenous cannabinoids in the brain and peripheral tissues: regulation of their levels and control of food intake. *Int J Obes (Lond).* Apr 2006;30 Suppl 1:S7-S12.
89. Bellocchio L, Cervino C, Pasquali R, Pagotto U. The endocannabinoid system and energy metabolism. *J Neuroendocrinol.* Jun 2008;20(6):850-857.
90. Matias I, Gonthier MP, Orlando P, et al. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* Aug 2006;91(8):3171-3180.
91. D'Eon TM, Pierce KA, Roix JJ, Tyler A, Chen H, Teixeira SR. The role of adipocyte insulin resistance in the pathogenesis of obesity-related elevations in endocannabinoids. *Diabetes.* May 2008;57(5):1262-1268.
92. Murdolo G, Kempf K, Hammarstedt A, Herder C, Smith U, Jansson PA. Insulin differentially modulates the peripheral endocannabinoid system in human subcutaneous abdominal adipose tissue from lean and obese individuals. *J Endocrinol Invest.* Sep 2007;30(8):RC17-21.
93. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature.* Apr 12 2001;410(6830):822-825.

94. Jumpertz R, Guijarro A, Pratley RE, Piomelli D, Krakoff J. Central and peripheral endocannabinoids and cognate acylethanolamides in humans: association with race, adiposity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab.* Mar 2011;96(3):787-791.
95. Di Marzo V, Verrijken A, Hakkarainen A, et al. Role of insulin as a negative regulator of plasma endocannabinoid levels in obese and nonobese subjects. *Eur J Endocrinol.* Nov 2009;161(5):715-722.
96. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, et al. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes.* Oct 2005;54(10):2838-2843.
97. Vaughn LK, Denning G, Stuhr KL, de Wit H, Hill MN, Hillard CJ. Endocannabinoid signalling: has it got rhythm? *Br J Pharmacol.* Jun 2010;160(3):530-543.
98. Jumpertz R, Wiesner T, Bluher M, et al. Circulating endocannabinoids and N-acyl-ethanolamides in patients with sleep apnea--specific role of oleoylethanolamide. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* Oct 2010;118(9):591-595.
99. Sundram S, Copolov D, Dean B. Clozapine decreases [3H] CP 55940 binding to the cannabinoid 1 receptor in the rat nucleus accumbens. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol.* May 2005;371(5):428-433.
100. Hill MN, Ho WS, Hillard CJ, Gorzalka BB. Differential effects of the antidepressants tranylcypromine and fluoxetine on limbic cannabinoid receptor binding and endocannabinoid contents. *J Neural Transm.* Dec 2008;115(12):1673-1679.
101. Paunescu H, Coman OA, Coman L, et al. Cannabinoid system and cyclooxygenases inhibitors. *J Med Life.* Jan-Mar 2011;4(1):11-20.
102. Snider NT, Sikora MJ, Sridar C, Feuerstein TJ, Rae JM, Hollenberg PF. The endocannabinoid anandamide is a substrate for the human polymorphic cytochrome P450 2D6. *J Pharmacol Exp Ther.* Nov 2008;327(2):538-545.
103. Cravatt BF, Saghatelian A, Hawkins EG, Clement AB, Bracey MH, Lichtman AH. Functional disassociation of the central and peripheral fatty acid amide signaling systems. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jul 20 2004;101(29):10821-10826.
104. Chavarria-Siles I, Contreras-Rojas J, Hare E, et al. Cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and susceptibility to a quantitative phenotype for hebephrenic schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* Apr 5 2008;147(3):279-284.
105. Zanettini C, Panlilio LV, Alicki M, Goldberg SR, Haller J, Yasar S. Effects of endocannabinoid system modulation on cognitive and emotional behavior. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:57.
106. Baker D, Pryce G, Davies WL, Hiley CR. In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends Pharmacol Sci.* Jan 2006;27(1):1-4.
107. Bouaboula M, Bourrie B, Rinaldi-Carmona M, Shire D, Le Fur G, Casellas P. Stimulation of cannabinoid receptor CB1 induces krox-24 expression in human astrocytoma cells. *J Biol Chem.* Jun 9 1995;270(23):13973-13980.

108. Waksman Y, Olson JM, Carlisle SJ, Cabral GA. The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther*. Mar 1999;288(3):1357-1366.
109. Molina-Holgado E, Vela JM, Arevalo-Martin A, et al. Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival: involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Akt signaling. *J Neurosci*. Nov 15 2002;22(22):9742-9753.
110. Mackie K. Cannabinoid receptor homo- and heterodimerization. *Life Sci*. Aug 19 2005;77(14):1667-1673.
111. Mackie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol*. 2005(168):299-325.
112. Mackie K. Signaling via CNS cannabinoid receptors. *Mol Cell Endocrinol*. Apr 16 2008;286(1-2 Suppl 1):S60-65.
113. Liu QR, Pan CH, Hishimoto A, et al. Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav*. Jul 2009;8(5):519-530.
114. Roche R, Hoareau L, Bes-Houtmann S, et al. Presence of the cannabinoid receptors, CB1 and CB2, in human omental and subcutaneous adipocytes. *Histochem Cell Biol*. Aug 2006;126(2):177-187.
115. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*. Oct 14 2005;310(5746):329-332.
116. Sang N, Chen C. Lipid signaling and synaptic plasticity. *Neuroscientist*. Oct 2006;12(5):425-434.
117. Ahn K, McKinney MK, Cravatt BF. Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system. *Chem Rev*. May 2008;108(5):1687-1707.
118. Andre A, Gonthier MP. The endocannabinoid system: its roles in energy balance and potential as a target for obesity treatment. *Int J Biochem Cell Biol*. Nov 2010;42(11):1788-1801.
119. Maccarrone M, Dainese E, Oddi S. Intracellular trafficking of anandamide: new concepts for signaling. *Trends Biochem Sci*. Nov 2010;35(11):601-608.
120. Pamplona FA, Takahashi RN. Psychopharmacology of the endocannabinoids: far beyond anandamide. *J Psychopharmacol*. Jun 7 2011.
121. Ueda N, Tsuboi K, Uyama T, Ohnishi T. Biosynthesis and degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Biofactors*. Jan 2011;37(1):1-7.
122. Stella N, Piomelli D. Receptor-dependent formation of endogenous cannabinoids in cortical neurons. *Eur J Pharmacol*. Aug 17 2001;425(3):189-196.
123. Mackie K, Stella N. Cannabinoid receptors and endocannabinoids: evidence for new players. *AAPS J*. 2006;8(2):E298-306.

124. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al. Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- α . *Nature*. Sep 4 2003;425(6953):90-93.
125. Moreno S, Farioli-Vecchioli S, Ceru MP. Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*. 2004;123(1):131-145.
126. Schnegg CI, Robbins ME. Neuroprotective Mechanisms of PPAR δ : Modulation of Oxidative Stress and Inflammatory Processes. *PPAR Res*. 2011;2011:373560.
127. Yan ZC, Liu DY, Zhang LL, et al. Exercise reduces adipose tissue via cannabinoid receptor type 1 which is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor- δ . *Biochem Biophys Res Commun*. Mar 9 2007;354(2):427-433.
128. Mezey E, Toth ZE, Cortright DN, et al. Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1), and VR1-like immunoreactivity, in the central nervous system of the rat and human. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Mar 28 2000;97(7):3655-3660.
129. Roberts JC, Davis JB, Benham CD. [3H]Resiniferatoxin autoradiography in the CNS of wild-type and TRPV1 null mice defines TRPV1 (VR-1) protein distribution. *Brain Res*. Jan 9 2004;995(2):176-183.
130. Starowicz K, Nigam S, Di Marzo V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol Ther*. Apr 2007;114(1):13-33.
131. Jeske NA, Patwardhan AM, Gamper N, Price TJ, Akopian AN, Hargreaves KM. Cannabinoid WIN 55,212-2 regulates TRPV1 phosphorylation in sensory neurons. *J Biol Chem*. Oct 27 2006;281(43):32879-32890.
132. Patwardhan AM, Jeske NA, Price TJ, Gamper N, Akopian AN, Hargreaves KM. The cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and evokes peripheral antihyperalgesia via calcineurin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jul 25 2006;103(30):11393-11398.
133. Kupfermann I. Functional studies of cotransmission. *Physiol Rev*. Jul 1991;71(3):683-732.
134. Lu T, Rubio ME, Trussell LO. Glycinergic transmission shaped by the corelease of GABA in a mammalian auditory synapse. *Neuron*. Feb 28 2008;57(4):524-535.
135. Tecuapetla F, Patel JC, Xenias H, et al. Glutamatergic signaling by mesolimbic dopamine neurons in the nucleus accumbens. *J Neurosci*. May 19 2010;30(20):7105-7110.
136. Weisskopf MG, Zalutsky RA, Nicoll RA. The opioid peptide dynorphin mediates heterosynaptic depression of hippocampal mossy fibre synapses and modulates long-term potentiation. *Nature*. Sep 9 1993;365(6442):188.
137. Jo YH, Schlichter R. Synaptic corelease of ATP and GABA in cultured spinal neurons. *Nat Neurosci*. Mar 1999;2(3):241-245.

138. Regehr WG, Carey MR, Best AR. Activity-dependent regulation of synapses by retrograde messengers. *Neuron*. Jul 30 2009;63(2):154-170.
139. Duguid IC, Smart TG. Retrograde activation of presynaptic NMDA receptors enhances GABA release at cerebellar interneuron-Purkinje cell synapses. *Nat Neurosci*. May 2004;7(5):525-533.
140. Hirasawa M, Schwab Y, Natah S, et al. Dendritically released transmitters cooperate via autocrine and retrograde actions to inhibit afferent excitation in rat brain. *J Physiol*. Sep 1 2004;559(Pt 2):611-624.
141. Zilberter Y, Harkany T, Holmgren CD. Dendritic release of retrograde messengers controls synaptic transmission in local neocortical networks. *Neuroscientist*. Aug 2005;11(4):334-344.
142. Di S, Maxson MM, Franco A, Tasker JG. Glucocorticoids regulate glutamate and GABA synapse-specific retrograde transmission via divergent nongenomic signaling pathways. *J Neurosci*. Jan 14 2009;29(2):393-401.
143. Iremonger KJ, Kuzmiski JB, Baimoukhametova DV, Bains JS. Dual regulation of anterograde and retrograde transmission by endocannabinoids. *J Neurosci*. Aug 17 2011;31(33):12011-12020.
144. Kreitzer AC, Regehr WG. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron*. Mar 2001;29(3):717-727.
145. Iremonger KJ, Bains JS. Retrograde opioid signaling regulates glutamatergic transmission in the hypothalamus. *J Neurosci*. Jun 3 2009;29(22):7349-7358.
146. Alexander SP, Randall M. Cannabinoids and their actions. *Br J Pharmacol*. Nov 2007;152(5):557-558.
147. Fernandez-Ruiz J, Hernandez M, Ramos JA. Cannabinoid-dopamine interaction in the pathophysiology and treatment of CNS disorders. *CNS Neurosci Ther*. Jun 2010;16(3):e72-91.
148. Eggan SM, Lewis DA. Immunocytochemical distribution of the cannabinoid CB1 receptor in the primate neocortex: a regional and laminar analysis. *Cereb Cortex*. Jan 2007;17(1):175-191.
149. Seutin V. Dopaminergic neurones: much more than dopamine? *Br J Pharmacol*. Sep 2005;146(2):167-169.
150. Tzavara ET, Li DL, Moutsimilli L, et al. Endocannabinoids activate transient receptor potential vanilloid 1 receptors to reduce hyperdopaminergia-related hyperactivity: therapeutic implications. *Biol Psychiatry*. Mar 15 2006;59(6):508-515.
151. Oz M, Jaligam V, Galadari S, Petroianu G, Shuba YM, Shippenberg TS. The endogenous cannabinoid, anandamide, inhibits dopamine transporter function by a receptor-independent mechanism. *J Neurochem*. Mar 2010;112(6):1454-1464.
152. Andre VM, Cepeda C, Cummings DM, et al. Dopamine modulation of excitatory currents in the striatum is dictated by the expression of D1 or D2 receptors and modified by endocannabinoids. *Eur J Neurosci*. Jan 2010;31(1):14-28.

153. Martin AB, Fernandez-Espejo E, Ferrer B, et al. Expression and function of CB1 receptor in the rat striatum: localization and effects on D1 and D2 dopamine receptor-mediated motor behaviors. *Neuropsychopharmacology*. Jun 2008;33(7):1667-1679.
154. Mailleux P, Vanderhaeghen JJ. Dopaminergic regulation of cannabinoid receptor mRNA levels in the rat caudate-putamen: an in situ hybridization study. *J Neurochem*. Nov 1993;61(5):1705-1712.
155. Gonzalez B, Paz F, Floran L, Aceves J, Erlij D, Floran B. Cannabinoid agonists stimulate [3H]GABA release in the globus pallidus of the rat when G(i) protein-receptor coupling is restricted: role of dopamine D2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther*. Mar 2009;328(3):822-828.
156. Agnati LF, Ferre S, Lluís C, Franco R, Fuxe K. Molecular mechanisms and therapeutical implications of intramembrane receptor/receptor interactions among heptahelical receptors with examples from the striatopallidal GABA neurons. *Pharmacol Rev*. Sep 2003;55(3):509-550.
157. Ferre S, Agnati LF, Ciruela F, et al. Neurotransmitter receptor heteromers and their integrative role in 'local modules': the striatal spine module. *Brain Res Rev*. Aug 2007;55(1):55-67.
158. Ferre S, Ciruela F, Woods AS, Lluís C, Franco R. Functional relevance of neurotransmitter receptor heteromers in the central nervous system. *Trends Neurosci*. Sep 2007;30(9):440-446.
159. Ferre S, Goldberg SR, Lluís C, Franco R. Looking for the role of cannabinoid receptor heteromers in striatal function. *Neuropharmacology*. 2009;56 Suppl 1:226-234.
160. Franco R, Casado V, Cortes A, et al. Basic concepts in G-protein-coupled receptor homo- and heterodimerization. *ScientificWorldJournal*. 2007;7:48-57.
161. Rashid AJ, So CH, Kong MM, et al. D1-D2 dopamine receptor heterooligomers with unique pharmacology are coupled to rapid activation of Gq/11 in the striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jan 9 2007;104(2):654-659.
162. Kearn CS, Blake-Palmer K, Daniel E, Mackie K, Glass M. Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? *Mol Pharmacol*. May 2005;67(5):1697-1704.
163. Marcellino D, Carriba P, Filip M, et al. Antagonistic cannabinoid CB1/dopamine D2 receptor interactions in striatal CB1/D2 heteromers. A combined neurochemical and behavioral analysis. *Neuropharmacology*. Apr 2008;54(5):815-823.
164. Pickel VM, Chan J, Kearn CS, Mackie K. Targeting dopamine D2 and cannabinoid-1 (CB1) receptors in rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol*. Mar 20 2006;495(3):299-313.
165. Chiu CQ, Puente N, Grandes P, Castillo PE. Dopaminergic modulation of endocannabinoid-mediated plasticity at GABAergic synapses in the prefrontal cortex. *J Neurosci*. May 26 2010;30(21):7236-7248.

166. Hu SS, Bradshaw HB, Benton VM, et al. The biosynthesis of N-arachidonoyl dopamine (NADA), a putative endocannabinoid and endovanilloid, via conjugation of arachidonic acid with dopamine. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. Oct 2009;81(4):291-301.
167. Starowicz K, Cristino L, Di Marzo V. TRPV1 receptors in the central nervous system: potential for previously unforeseen therapeutic applications. *Curr Pharm Des*. 2008;14(1):42-54.
168. Bobrov MY, Lizhin AA, Andrianova EL, et al. Antioxidant and neuroprotective properties of N-arachidonoyldopamine. *Neurosci Lett*. Jan 24 2008;431(1):6-11.
169. Marinelli S, Di Marzo V, Florenzano F, et al. N-arachidonoyl-dopamine tunes synaptic transmission onto dopaminergic neurons by activating both cannabinoid and vanilloid receptors. *Neuropsychopharmacology*. Feb 2007;32(2):298-308.
170. Petrou S, Ordway RW, Singer JJ, Walsh JV, Jr. A putative fatty acid-binding domain of the NMDA receptor. *Trends Biochem Sci*. Feb 1993;18(2):41-42.
171. Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, et al. Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J Neurochem*. Feb 1998;70(2):671-676.
172. Coyle JT, Tsai G. The NMDA receptor glycine modulatory site: a therapeutic target for improving cognition and reducing negative symptoms in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. Jun 2004;174(1):32-38.
173. Coyle JE, Qamar S, Rajashankar KR, Nikolov DB. Structure of GABARAP in two conformations: implications for GABA(A) receptor localization and tubulin binding. *Neuron*. Jan 3 2002;33(1):63-74.
174. Yost CS, Hampson AJ, Leonoudakis D, Koblin DD, Bornheim LM, Gray AT. Oleamide potentiates benzodiazepine-sensitive gamma-aminobutyric acid receptor activity but does not alter minimum alveolar anesthetic concentration. *Anesth Analg*. Jun 1998;86(6):1294-1300.
175. Oz M, Ravindran A, Diaz-Ruiz O, Zhang L, Morales M. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. Sep 2003;306(3):1003-1010.
176. Oz M, Jackson SN, Woods AS, Morales M, Zhang L. Additive effects of endogenous cannabinoid anandamide and ethanol on alpha7-nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in *Xenopus* Oocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. Jun 2005;313(3):1272-1280.
177. Evans RM, Scott RH, Ross RA. Multiple actions of anandamide on neonatal rat cultured sensory neurones. *Br J Pharmacol*. Apr 2004;141(7):1223-1233.
178. Nicholson RA, Liao C, Zheng J, et al. Sodium channel inhibition by anandamide and synthetic cannabimimetics in brain. *Brain Res*. Jul 18 2003;978(1-2):194-204.
179. Izumi Y, Zorumski CF. NMDA Receptors, mGluR5, and Endocannabinoids are Involved in a Cascade Leading to Hippocampal Long-Term Depression. *Neuropsychopharmacology*. Oct 12 2011.

180. Kim D. Fatty acid-sensitive two-pore domain K⁺ channels. *Trends Pharmacol Sci.* Dec 2003;24(12):648-654.
181. Movahed P, Jonsson BA, Birnir B, et al. Endogenous unsaturated C18 N-acylethanolamines are vanilloid receptor (TRPV1) agonists. *J Biol Chem.* Nov 18 2005;280(46):38496-38504.
182. Miller B, Sarantis M, Traynelis SF, Attwell D. Potentiation of NMDA receptor currents by arachidonic acid. *Nature.* Feb 20 1992;355(6362):722-725.
183. Paoletti P, Ascher P. Mechanosensitivity of NMDA receptors in cultured mouse central neurons. *Neuron.* Sep 1994;13(3):645-655.
184. Bari M, Bonifacino T, Milanese M, et al. The endocannabinoid system in rat gliosomes and its role in the modulation of glutamate release. *Cell Mol Life Sci.* Mar 2011;68(5):833-845.
185. Melis M, Pillolla G, Luchicchi A, et al. Endogenous fatty acid ethanolamides suppress nicotine-induced activation of mesolimbic dopamine neurons through nuclear receptors. *J Neurosci.* Dec 17 2008;28(51):13985-13994.
186. Hrabovszky E, Wittmann G, Kallo I, Fuzesi T, Fekete C, Liposits Z. Distribution of type 1 cannabinoid receptor expressing neurons in the septal-hypothalamic region of the mouse. Colocalization with GABAergic and glutamatergic markers. *J Comp Neurol.* Sep 20 2011.
187. Koethe D, Giuffrida A, Schreiber D, et al. Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. *Br J Psychiatry.* Apr 2009;194(4):371-372.
188. Marco EM, Garcia-Gutierrez MS, Bermudez-Silva FJ, et al. Endocannabinoid system and psychiatry: in search of a neurobiological basis for detrimental and potential therapeutic effects. *Front Behav Neurosci.* 2011;5:63.
189. Eggan SM, Stoyak SR, Verrico CD, Lewis DA. Cannabinoid CB1 receptor immunoreactivity in the prefrontal cortex: Comparison of schizophrenia and major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology.* Sep 2010;35(10):2060-2071.
190. Dean B, Sundram S, Bradbury R, Scarr E, Copolov D. Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience.* 2001;103(1):9-15.
191. Koethe D, Llenos IC, Dulay JR, et al. Expression of CB1 cannabinoid receptor in the anterior cingulate cortex in schizophrenia, bipolar disorder, and major depression. *J Neural Transm.* 2007;114(8):1055-1063.
192. Eggan SM, Hashimoto T, Lewis DA. Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* Jul 2008;65(7):772-784.
193. Uriguen L, Garcia-Fuster MJ, Callado LF, et al. Immunodensity and mRNA expression of A2A adenosine, D2 dopamine, and CB1 cannabinoid receptors in postmortem frontal cortex of subjects with schizophrenia: effect of antipsychotic treatment. *Psychopharmacology (Berl).* Oct 2009;206(2):313-324.

194. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, et al. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [¹¹C]OMAR. *Neuroimage*. Oct 1 2010;52(4):1505-1513.
195. Ceccarini J DHM, van Winkel R, Koethe D, Bormans G, Leweke M. In vivo PET imaging of cerebral type 1 cannabinoid receptor availability in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Res*. 2010;117(170).
196. Dalton VS, Long LE, Weickert CS, Zavitsanou K. Paranoid schizophrenia is characterized by increased CB1 receptor binding in the dorsolateral prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. Jul 2011;36(8):1620-1630.
197. Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci*. 2002;25:409-432.
198. Tyrka AR, Wier L, Price LH, Ross NS, Carpenter LL. Childhood parental loss and adult psychopathology: effects of loss characteristics and contextual factors. *Int J Psychiatry Med*. 2008;38(3):329-344.
199. Llorente R, Miguel-Blanco C, Aisa B, et al. Long term sex-dependent psychoneuroendocrine effects of maternal deprivation and juvenile unpredictable stress in rats. *J Neuroendocrinol*. Apr 2011;23(4):329-344.
200. Marco EM, Adriani W, Llorente R, Laviola G, Viveros MP. Detrimental psychophysiological effects of early maternal deprivation in adolescent and adult rodents: altered responses to cannabinoid exposure. *Neurosci Biobehav Rev*. Apr 2009;33(4):498-507.
201. Ellenbroek BA. Animal models in the genomic era: possibilities and limitations with special emphasis on schizophrenia. *Behav Pharmacol*. Sep 2003;14(5-6):409-417.
202. Llorente-Berzal A, Mela V, Borcel E, et al. Neurobehavioral and metabolic long-term consequences of neonatal maternal deprivation stress and adolescent olanzapine treatment in male and female rats. *Neuropharmacology*. Jul 28 2011.
203. Llorente-Berzal A, Fuentes S, Gagliano H, et al. Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. *Addict Biol*. Oct 2011;16(4):624-637.
204. Fone KC, Porkess MV. Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev*. Aug 2008;32(6):1087-1102.
205. Sciolino NR, Bortolato M, Eisenstein SA, et al. Social isolation and chronic handling alter endocannabinoid signaling and behavioral reactivity to context in adult rats. *Neuroscience*. Jun 30 2010;168(2):371-386.
206. Zamberletti E, Vigano D, Guidali C, Rubino T, Parolaro D. Long-lasting recovery of psychotic-like symptoms in isolation-reared rats after chronic but not acute treatment with the cannabinoid antagonist AM251. *Int J Neuropsychopharmacol*. Oct 6 2010;1-14.
207. Malone DT, Kearn CS, Chongue L, Mackie K, Taylor DA. Effect of social isolation on CB1 and D2 receptor and fatty acid amide hydrolase expression in rats. *Neuroscience*. Mar 3 2008;152(1):265-272.

208. Robinson SA, Loiacono RE, Christopoulos A, Sexton PM, Malone DT. The effect of social isolation on rat brain expression of genes associated with endocannabinoid signaling. *Brain Res.* Jul 9 2010;1343:153-167.
209. Harkany T, Guzman M, Galve-Roperh I, Berghuis P, Devi LA, Mackie K. The emerging functions of endocannabinoid signaling during CNS development. *Trends Pharmacol Sci.* Feb 2007;28(2):83-92.
210. Galve-Roperh I, Aguado T, Palazuelos J, Guzman M. Mechanisms of control of neuron survival by the endocannabinoid system. *Curr Pharm Des.* 2008;14(23):2279-2288.
211. Katona I, Freund TF. Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nat Med.* Sep 2008;14(9):923-930.
212. Ortega-Alvaro A, Aracil-Fernandez A, Garcia-Gutierrez MS, Navarrete F, Manzanares J. Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. *Neuropsychopharmacology.* Jun 2011;36(7):1489-1504.
213. Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, et al. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry.* May 15 2010;67(10):974-982.
214. Fernandez-Ruiz J, Gonzales S. Cannabinoid control of motor function at the basal ganglia. *Handb Exp Pharmacol.* 2005(168):479-507.
215. Fernandez-Ruiz J. The endocannabinoid system as a target for the treatment of motor dysfunction. *Br J Pharmacol.* Apr 2009;156(7):1029-1040.
216. de Lago E, de Miguel R, Lastres-Becker I, Ramos JA, Fernandez-Ruiz J. Involvement of vanilloid-like receptors in the effects of anandamide on motor behavior and nigrostriatal dopaminergic activity: in vivo and in vitro evidence. *Brain Res.* May 8 2004;1007(1-2):152-159.
217. Lastres-Becker I, de Miguel R, De Petrocellis L, Makriyannis A, Di Marzo V, Fernandez-Ruiz J. Compounds acting at the endocannabinoid and/or endovanilloid systems reduce hyperkinesia in a rat model of Huntington's disease. *J Neurochem.* Mar 2003;84(5):1097-1109.
218. Akbarian S, Huang HS. Molecular and cellular mechanisms of altered GAD1/GAD67 expression in schizophrenia and related disorders. *Brain Res Rev.* Sep 2006;52(2):293-304.
219. Eggan SM, Melchitzky DS, Sesack SR, Fish KN, Lewis DA. Relationship of cannabinoid CB1 receptor and cholecystokinin immunoreactivity in monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Neuroscience.* Sep 15 2010;169(4):1651-1661.
220. Hashimoto T, Arion D, Unger T, et al. Alterations in GABA-related transcriptome in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Mol Psychiatry.* Feb 2008;13(2):147-161.
221. Marsicano G, Lutz B. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci.* Dec 1999;11(12):4213-4225.
222. Pistis M, Ferraro L, Pira L, et al. Delta(9)-tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels

- in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* Sep 6 2002;948(1-2):155-158.
223. Eggan SM, Lazarus MS, Stoyak SR, et al. Cortical Glutamic Acid Decarboxylase 67 Deficiency Results in Lower Cannabinoid 1 Receptor Messenger RNA Expression: Implications for Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* Oct 28 2011.
 224. Bodor AL, Katona I, Nyiri G, et al. Endocannabinoid signaling in rat somatosensory cortex: laminar differences and involvement of specific interneuron types. *J Neurosci.* Jul 20 2005;25(29):6845-6856.
 225. Ghose S, Crook JM, Bartus CL, et al. Metabotropic glutamate receptor 2 and 3 gene expression in the human prefrontal cortex and mesencephalon in schizophrenia. *Int J Neurosci.* Nov 2008;118(11):1609-1627.
 226. Volk DW, Eggan SM, Lewis DA. Alterations in metabotropic glutamate receptor 1alpha and regulator of G protein signaling 4 in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Am J Psychiatry.* Dec 2010;167(12):1489-1498.
 227. Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature.* Mar 29 2001;410(6828):588-592.
 228. Ohno-Shosaku T, Maejima T, Kano M. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron.* Mar 2001;29(3):729-738.
 229. Jung KM, Mangieri R, Stapleton C, et al. Stimulation of endocannabinoid formation in brain slice cultures through activation of group I metabotropic glutamate receptors. *Mol Pharmacol.* Nov 2005;68(5):1196-1202.
 230. Moghaddam B, Adams BW. Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science.* Aug 28 1998;281(5381):1349-1352.
 231. Cartmell J, Monn JA, Schoepp DD. Attenuation of specific PCP-evoked behaviors by the potent mGlu2/3 receptor agonist, LY379268 and comparison with the atypical antipsychotic, clozapine. *Psychopharmacology (Berl).* Mar 2000;148(4):423-429.
 232. Roser P, Haussleiter IS, Chong HJ, et al. Inhibition of cerebral type 1 cannabinoid receptors is associated with impaired auditory mismatch negativity generation in the ketamine model of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* Dec 2011;218(4):611-620.
 233. Vigano D, Guidali C, Petrosino S, et al. Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* Jun 2009;12(5):599-614.
 234. Sun SL, Liu Y, Wei J, Liu SZ, Ju GZ. The PPARG gene may be associated with schizophrenia in a Chinese population. *Psychiatr Genet.* Oct 2008;18(5):253-254.
 235. Mathur A, Law MH, Hamzehloei T, Megson IL, Shaw DJ, Wei J. No association between the PPARG gene and schizophrenia in a British population. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* Oct 2009;81(4):273-277.

236. Ballon N, Leroy S, Roy C, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene (CNR1): association with cocaine addiction in an African-Caribbean population. *Pharmacogenomics J.* Mar-Apr 2006;6(2):126-130.
237. Comings DE, Muhleman D, Gade R, et al. Cannabinoid receptor gene (CNR1): association with i.v. drug use. *Mol Psychiatry.* Mar 1997;2(2):161-168.
238. Johnson JP, Muhleman D, MacMurray J, et al. Association between the cannabinoid receptor gene (CNR1) and the P300 event-related potential. *Mol Psychiatry.* Mar 1997;2(2):169-171.
239. Ho BC, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC. Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. *Schizophr Res.* May 2011;128(1-3):66-75.
240. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology.* Jan 2010;35(1):217-238.
241. O'Brien CP, Gardner EL. Critical assessment of how to study addiction and its treatment: human and non-human animal models. *Pharmacol Ther.* Oct 2005;108(1):18-58.
242. Kalivas PW, O'Brien C. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology.* Jan 2008;33(1):166-180.
243. Chen BT, Hopf FW, Bonci A. Synaptic plasticity in the mesolimbic system: therapeutic implications for substance abuse. *Ann N Y Acad Sci.* Feb 2010;1187:129-139.
244. Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology.* Feb 2001;24(2):97-129.
245. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology.* 2004;47 Suppl 1:24-32.
246. Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, et al. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev.* Jan 2004;27(8):739-749.
247. Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jul 1988;85(14):5274-5278.
248. Di Chiara G, Bassareo V, Fenu S, et al. Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology.* 2004;47 Suppl 1:227-241.
249. Bardo MT. Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit Rev Neurobiol.* 1998;12(1-2):37-67.
250. Koob GF. A role for GABA mechanisms in the motivational effects of alcohol. *Biochem Pharmacol.* Oct 15 2004;68(8):1515-1525.
251. Ross S, Peselow E. The neurobiology of addictive disorders. *Clin Neuropharmacol.* Sep-Oct 2009;32(5):269-276.
252. Mahler SV, Smith KS, Berridge KC. Endocannabinoid hedonic hotspot for sensory pleasure: anandamide in nucleus accumbens shell enhances 'liking' of a sweet reward. *Neuropsychopharmacology.* Nov 2007;32(11):2267-2278.

253. Rademacher DJ, Hillard CJ. Interactions between endocannabinoids and stress-induced decreased sensitivity to natural reward. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. Apr 13 2007;31(3):633-641.
254. Soria-Gomez E, Matias I, Rueda-Orozco PE, et al. Pharmacological enhancement of the endocannabinoid system in the nucleus accumbens shell stimulates food intake and increases c-Fos expression in the hypothalamus. *Br J Pharmacol*. Aug 2007;151(7):1109-1116.
255. Gobbi G, Bambico FR, Mangieri R, et al. Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 20 2005;102(51):18620-18625.
256. Bortolato M, Mangieri RA, Fu J, et al. Antidepressant-like activity of the fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 in a rat model of chronic mild stress. *Biol Psychiatry*. Nov 15 2007;62(10):1103-1110.
257. Hill MN, Gorzalka BB. Pharmacological enhancement of cannabinoid CB1 receptor activity elicits an antidepressant-like response in the rat forced swim test. *Eur Neuropsychopharmacol*. Dec 2005;15(6):593-599.
258. Kathuria S, Gaetani S, Fegley D, et al. Modulation of anxiety through blockade of anandamide hydrolysis. *Nat Med*. Jan 2003;9(1):76-81.
259. Patel S, Roelke CT, Rademacher DJ, Hillard CJ. Inhibition of restraint stress-induced neural and behavioural activation by endogenous cannabinoid signalling. *Eur J Neurosci*. Feb 2005;21(4):1057-1069.
260. Scherma M, Medalie J, Fratta W, et al. The endogenous cannabinoid anandamide has effects on motivation and anxiety that are revealed by fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition. *Neuropharmacology*. Jan 2008;54(1):129-140.
261. Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci*. Apr 2006;29(4):225-232.
262. Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ. Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jun 11 2002;99(12):8384-8388.
263. Chevaleyre V, Castillo PE. Endocannabinoid-mediated metaplasticity in the hippocampus. *Neuron*. Sep 16 2004;43(6):871-881.
264. Kringelbach ML. The human orbitofrontal cortex: linking reward to hedonic experience. *Nat Rev Neurosci*. Sep 2005;6(9):691-702.
265. Szabo B, Siemes S, Wallmichrath I. Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *Eur J Neurosci*. Jun 2002;15(12):2057-2061.
266. Riegel AC, Lupica CR. Independent presynaptic and postsynaptic mechanisms regulate endocannabinoid signaling at multiple synapses in the ventral tegmental area. *J Neurosci*. Dec 8 2004;24(49):11070-11078.
267. Cheer JF, Wassum KM, Sombers LA, et al. Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation. *J Neurosci*. Jan 24 2007;27(4):791-795.

268. Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci.* May 2005;8(5):585-589.
269. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, et al. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res.* Dec 1996;20(9):1594-1598.
270. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry.* Dec 2001;158(12):2015-2021.
271. Wang GJ, Volkow ND, Fowler JS, et al. Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology.* Feb 1997;16(2):174-182.
272. Martinez D, Broft A, Foltin RW, et al. Cocaine dependence and d2 receptor availability in the functional subdivisions of the striatum: relationship with cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology.* Jun 2004;29(6):1190-1202.
273. Lee B, London ED, Poldrack RA, et al. Striatal dopamine d2/d3 receptor availability is reduced in methamphetamine dependence and is linked to impulsivity. *J Neurosci.* Nov 25 2009;29(47):14734-14740.
274. Dalton VS, Wang H, Zavitsanou K. HU210-induced downregulation in cannabinoid CB1 receptor binding strongly correlates with body weight loss in the adult rat. *Neurochem Res.* Jul 2009;34(7):1343-1353.
275. Villares J. Chronic use of marijuana decreases cannabinoid receptor binding and mRNA expression in the human brain. *Neuroscience.* Mar 2 2007;145(1):323-334.
276. Deng C, Han M, Huang XF. No changes in densities of cannabinoid receptors in the superior temporal gyrus in schizophrenia. *Neurosci Bull.* Nov 2007;23(6):341-347.
277. Ishiguro H, Iwasaki S, Teasenfz L, et al. Involvement of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *Pharmacogenomics J.* Dec 2007;7(6):380-385.
278. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, et al. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS One.* 2008;3(2):e1640.
279. Onaivi ES, Carpio O, Ishiguro H, Schanz N, Uhl GR, Benno R. Behavioral effects of CB2 cannabinoid receptor activation and its influence on food and alcohol consumption. *Ann N Y Acad Sci.* Oct 2008;1139:426-433.
280. Garcia-Gutierrez MS, Manzanares J. Overexpression of CB2 cannabinoid receptors decreased vulnerability to anxiety and impaired anxiolytic action of alprazolam in mice. *J Psychopharmacol.* Jan 2011;25(1):111-120.
281. Garcia-Gutierrez MS, Perez-Ortiz JM, Gutierrez-Adan A, Manzanares J. Depression-resistant endophenotype in mice overexpressing cannabinoid CB(2) receptors. *Br J Pharmacol.* Aug 2010;160(7):1773-1784.

282. Tian YH, Lee SY, Kim HC, Jang CG. Repeated methamphetamine treatment increases expression of TRPV1 mRNA in the frontal cortex but not in the striatum or hippocampus of mice. *Neurosci Lett*. Mar 12 2010;472(1):61-64.
283. Koob GF. Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. *Neuropharmacology*. 2009;56 Suppl 1:18-31.
284. Martin TJ, Ewan E. Chronic pain alters drug self-administration: implications for addiction and pain mechanisms. *Exp Clin Psychopharmacol*. Oct 2008;16(5):357-366.
285. Blednov YA, Walker D, Martinez M, Levine M, Damak S, Margolskee RF. Perception of sweet taste is important for voluntary alcohol consumption in mice. *Genes Brain Behav*. Feb 2008;7(1):1-13.
286. Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*. Apr 14 2000;288(5464):306-313.
287. Blednov YA, Harris RA. Deletion of vanilloid receptor (TRPV1) in mice alters behavioral effects of ethanol. *Neuropharmacology*. Mar 2009;56(4):814-820.
288. Trevisani M, Smart D, Gunthorpe MJ, et al. Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nat Neurosci*. Jun 2002;5(6):546-551.
289. Blednov YA, Cravatt BF, Boehm SL, 2nd, Walker D, Harris RA. Role of endocannabinoids in alcohol consumption and intoxication: studies of mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Neuropsychopharmacology*. Jul 2007;32(7):1570-1582.
290. Ahluwalia J, Urban L, Bevan S, Nagy I. Anandamide regulates neuropeptide release from capsaicin-sensitive primary sensory neurons by activating both the cannabinoid 1 receptor and the vanilloid receptor 1 in vitro. *Eur J Neurosci*. Jun 2003;17(12):2611-2618.
291. Mitirattanakul S, Lopez-Valdes HE, Liang J, et al. Bidirectional alterations of hippocampal cannabinoid 1 receptors and their endogenous ligands in a rat model of alcohol withdrawal and dependence. *Alcohol Clin Exp Res*. May 2007;31(5):855-867.
292. Gonzalez S, Cascio MG, Fernandez-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA. Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res*. Nov 1 2002;954(1):73-81.
293. Gonzalez S, Schmid PC, Fernandez-Ruiz J, Krebsbach R, Schmid HH, Ramos JA. Region-dependent changes in endocannabinoid transmission in the brain of morphine-dependent rats. *Addict Biol*. Jun 2003;8(2):159-166.
294. Li X, Hoffman AF, Peng XQ, Lupica CR, Gardner EL, Xi ZX. Attenuation of basal and cocaine-enhanced locomotion and nucleus accumbens dopamine in cannabinoid CB1-receptor-knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)*. May 2009;204(1):1-11.

295. Serrano A, Parsons LH. Endocannabinoid influence in drug reinforcement, dependence and addiction-related behaviors. *Pharmacol Ther.* Dec 2011;132(3):215-241.
296. Bossong MG, van Berckel BN, Boellaard R, et al. Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology.* Feb 2009;34(3):759-766.
297. Stokes PR, Mehta MA, Curran HV, Breen G, Grasby PM. Can recreational doses of THC produce significant dopamine release in the human striatum? *Neuroimage.* Oct 15 2009;48(1):186-190.
298. Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev Drug Discov.* May 2008;7(5):438-455.
299. Rentzsch J, Buntebart E, Stadelmeier A, Gallinat J, Jockers-Scherubl MC. Differential effects of chronic cannabis use on preattentive cognitive functioning in abstinent schizophrenic patients and healthy subjects. *Schizophr Res.* Aug 2011;130(1-3):222-227.
300. Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol.* Oct 2001;134(4):845-852.
301. Pertwee RG. Pharmacological actions of cannabinoids. *Handb Exp Pharmacol.* 2005(168):1-51.
302. Pertwee RG. Receptors and channels targeted by synthetic cannabinoid receptor agonists and antagonists. *Curr Med Chem.* 2010;17(14):1360-1381.
303. Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Vogt LJ, Sim-Selley LJ. Chronic delta9-tetrahydrocannabinol treatment produces a time-dependent loss of cannabinoid receptors and cannabinoid receptor-activated G proteins in rat brain. *J Neurochem.* Dec 1999;73(6):2447-2459.
304. Romero J, Berrendero F, Manzanares J, et al. Time-course of the cannabinoid receptor down-regulation in the adult rat brain caused by repeated exposure to delta9-tetrahydrocannabinol. *Synapse.* Nov 1998;30(3):298-308.
305. O'Sullivan SE, Kendall DA, Randall MD. Vascular effects of delta 9-tetrahydrocannabinol (THC), anandamide and N-arachidonoyldopamine (NADA) in the rat isolated aorta. *Eur J Pharmacol.* Jan 10 2005;507(1-3):211-221.
306. Diana M, Melis M, Gessa GL. Increase in meso-prefrontal dopaminergic activity after stimulation of CB1 receptors by cannabinoids. *Eur J Neurosci.* Sep 1998;10(9):2825-2830.
307. Maldonado R, Rodriguez de Fonseca F. Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlates. *J Neurosci.* May 1 2002;22(9):3326-3331.
308. Maldonado R, Valverde O. Participation of the opioid system in cannabinoid-induced antinociception and emotional-like responses. *Eur Neuropsychopharmacol.* Dec 2003;13(6):401-410.

309. Maldonado R. The neurobiology of addiction. *J Neural Transm Suppl.* 2003(66): 1-14.
310. Ghozland S, Matthes HW, Simonin F, Filliol D, Kieffer BL, Maldonado R. Motivational effects of cannabinoids are mediated by mu-opioid and kappa-opioid receptors. *J Neurosci.* Feb 1 2002;22(3):1146-1154.
311. Vinod KY, Sanguino E, Yalamanchili R, Manzanares J, Hungund BL. Manipulation of fatty acid amide hydrolase functional activity alters sensitivity and dependence to ethanol. *J Neurochem.* Jan 2008;104(1):233-243.
312. Cippitelli A, Bilbao A, Gorriti MA, et al. The anandamide transport inhibitor AM404 reduces ethanol self-administration. *Eur J Neurosci.* Jul 2007;26(2): 476-486.
313. Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS, Vadasz C. Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem.* Feb 2003;84(4):698-704.
314. McGregor IS, Dam KD, Mallet PE, Gallate JE. Delta9-THC reinstates beer- and sucrose-seeking behaviour in abstinent rats: comparison with midazolam, food deprivation and predator odour. *Alcohol Alcohol.* Jan-Feb 2005;40(1):35-45.
315. Mangieri RA, Hong KI, Piomelli D, Sinha R. An endocannabinoid signal associated with desire for alcohol is suppressed in recently abstinent alcoholics. *Psychopharmacology (Berl).* Jul 2009;205(1):63-72.
316. Gardner EL. Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav.* Jun 2005;81(2):263-284.
317. Rubio M, McHugh D, Fernandez-Ruiz J, Bradshaw H, Walker JM. Short-term exposure to alcohol in rats affects brain levels of anandamide, other N-acylethanolamines and 2-arachidonoyl-glycerol. *Neurosci Lett.* Jun 29 2007;421(3):270-274.
318. Caille S, Alvarez-Jaimes L, Polis I, Stouffer DG, Parsons LH. Specific alterations of extracellular endocannabinoid levels in the nucleus accumbens by ethanol, heroin, and cocaine self-administration. *J Neurosci.* Apr 4 2007;27(14): 3695-3702.
319. Ferrer B, Bermudez-Silva FJ, Bilbao A, et al. Regulation of brain anandamide by acute administration of ethanol. *Biochem J.* May 15 2007;404(1):97-104.
320. Basavarajappa BS, Hungund BL. Down-regulation of cannabinoid receptor agonist-stimulated [35S]GTP gamma S binding in synaptic plasma membrane from chronic ethanol exposed mouse. *Brain Res.* Jan 2 1999;815(1):89-97.
321. Basavarajappa BS, Cooper TB, Hungund BL. Chronic ethanol administration down-regulates cannabinoid receptors in mouse brain synaptic plasma membrane. *Brain Res.* May 18 1998;793(1-2):212-218.
322. Rothman RB, Baumann MH. Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *Eur J Pharmacol.* Oct 31 2003;479(1-3):23-40.
323. Lesscher HM, Hoogveld E, Burbach JP, van Ree JM, Gerrits MA. Endogenous cannabinoids are not involved in cocaine reinforcement and development of

- cocaine-induced behavioural sensitization. *Eur Neuropsychopharmacol.* Jan 2005;15(1):31-37.
324. Ward SJ, Rosenberg M, Dykstra LA, Walker EA. The CB1 antagonist rimonabant (SR141716) blocks cue-induced reinstatement of cocaine seeking and other context and extinction phenomena predictive of relapse. *Drug Alcohol Depend.* Dec 1 2009;105(3):248-255.
 325. De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, et al. A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med.* Oct 2001;7(10):1151-1154.
 326. De Vries TJ, de Vries W, Janssen MC, Schoffelmeer AN. Suppression of conditioned nicotine and sucrose seeking by the cannabinoid-1 receptor antagonist SR141716A. *Behav Brain Res.* Jun 3 2005;161(1):164-168.
 327. Parker LA, Burton P, Sorge RE, Yakiwchuk C, Mechoulam R. Effect of low doses of delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on the extinction of cocaine-induced and amphetamine-induced conditioned place preference learning in rats. *Psychopharmacology (Berl).* Sep 2004;175(3):360-366.
 328. Orio L, Edwards S, George O, Parsons LH, Koob GF. A role for the endocannabinoid system in the increased motivation for cocaine in extended-access conditions. *J Neurosci.* Apr 15 2009;29(15):4846-4857.
 329. Vaughn LK, Mantsch JR, Vranjkovic O, et al. Cannabinoid receptor involvement in stress-induced cocaine reinstatement: potential interaction with noradrenergic pathways. *Neuroscience.* Aug 16 2011.
 330. Picciotto MR, Caldarone BJ, King SL, Zachariou V. Nicotinic receptors in the brain. Links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacology.* May 2000;22(5):451-465.
 331. Luchicchi A, Lecca S, Carta S, et al. Effects of fatty acid amide hydrolase inhibition on neuronal responses to nicotine, cocaine and morphine in the nucleus accumbens shell and ventral tegmental area: involvement of PPAR-alpha nuclear receptors. *Addict Biol.* Jul 2010;15(3):277-288.
 332. Kalivas PW. The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci.* Aug 2009;10(8):561-572.
 333. McFarland K, Davidge SB, Lapish CC, Kalivas PW. Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *J Neurosci.* Feb 18 2004;24(7):1551-1560.
 334. Moran MM, McFarland K, Melendez RI, Kalivas PW, Seamans JK. Cystine/glutamate exchange regulates metabotropic glutamate receptor presynaptic inhibition of excitatory transmission and vulnerability to cocaine seeking. *J Neurosci.* Jul 6 2005;25(27):6389-6393.
 335. McBean GJ. Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters. *Trends Pharmacol Sci.* Jul 2002;23(7):299-302.
 336. Pendyam S, Mohan A, Kalivas PW, Nair SS. Computational model of extracellular glutamate in the nucleus accumbens incorporates neuroadaptations by chronic cocaine. *Neuroscience.* Feb 18 2009;158(4):1266-1276.

337. Knackstedt LA, LaRowe S, Mardikian P, et al. The role of cystine-glutamate exchange in nicotine dependence in rats and humans. *Biol Psychiatry*. May 15 2009;65(10):841-845.
338. Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci*. 2006;29:565-598.
339. Nestler EJ. Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat Neurosci*. Nov 2005;8(11):1445-1449.
340. Mato S, Robbe D, Puente N, Grandes P, Manzoni OJ. Presynaptic homeostatic plasticity rescues long-term depression after chronic Delta 9-tetrahydrocannabinol exposure. *J Neurosci*. Dec 14 2005;25(50):11619-11627.
341. Hoffman AF, Oz M, Caulder T, Lupica CR. Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *J Neurosci*. Jun 15 2003;23(12):4815-4820.
342. Le Moal M. Drug abuse: vulnerability and transition to addiction. *Pharmacopsychiatry*. May 2009;42 Suppl 1:S42-55.
343. Leggio L, Addolorato G, Cippitelli A, Jerlhag E, Kampov-Polevoy AB, Swift RM. Role of feeding-related pathways in alcohol dependence: A focus on sweet preference, NPY, and ghrelin. *Alcohol Clin Exp Res*. Feb 2011;35(2):194-202.
344. Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, Engel JA. Glutamatergic regulation of ghrelin-induced activation of the mesolimbic dopamine system. *Addict Biol*. Jan 2011;16(1):82-91.
345. Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, Engel JA. Ghrelin receptor antagonism attenuates cocaine- and amphetamine-induced locomotor stimulation, accumbal dopamine release, and conditioned place preference. *Psychopharmacology (Berl)*. Sep 2010;211(4):415-422.
346. Leggio L, Ferrulli A, Cardone S, et al. Ghrelin system in alcohol-dependent subjects: role of plasma ghrelin levels in alcohol drinking and craving. *Addict Biol*. Mar 11 2011.
347. Crosby KM, Bains JS. The intricate link between glucocorticoids and endocannabinoids at stress-relevant synapses in the hypothalamus. *Neuroscience*. Dec 3 2011.
348. Serrano A, Pavon FJ, Tovar S, et al. Oleoylethanolamide: effects on hypothalamic transmitters and gut peptides regulating food intake. *Neuropharmacology*. Mar 2011;60(4):593-601.
349. Serrano A, Del Arco I, Javier Pavon F, Macias M, Perez-Valero V, Rodriguez de Fonseca F. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A (Rimonabant) enhances the metabolic benefits of long-term treatment with oleoylethanolamide in Zucker rats. *Neuropharmacology*. Jan 2008;54(1):226-234.
350. Pertwee RG. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J*. 2005;7(3):E625-654.

351. Hafner H, an der Heiden W. The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1999;249 Suppl 4:14-26.
352. Tzavara ET, Wade M, Nomikos GG. Biphasic effects of cannabinoids on acetylcholine release in the hippocampus: site and mechanism of action. *J Neurosci.* Oct 15 2003;23(28):9374-9384.
353. Sim-Selley LJ. Regulation of cannabinoid CB1 receptors in the central nervous system by chronic cannabinoids. *Crit Rev Neurobiol.* 2003;15(2):91-119.
354. Pertwee RG. Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond. *Addict Biol.* Jun 2008;13(2):147-159.
355. Price MR, Baillie GL, Thomas A, et al. Allosteric modulation of the cannabinoid CB1 receptor. *Mol Pharmacol.* Nov 2005;68(5):1484-1495.
356. Yu M, Ives D, Ramesha CS. Synthesis of prostaglandin E2 ethanolamide from anandamide by cyclooxygenase-2. *J Biol Chem.* Aug 22 1997;272(34):21181-21186.
357. Fowler CJ. The contribution of cyclooxygenase-2 to endocannabinoid metabolism and action. *Br J Pharmacol.* Nov 2007;152(5):594-601.
358. Ueda N, Yamamoto K, Yamamoto S, et al. Lipoxygenase-catalyzed oxygenation of arachidonylethanolamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochim Biophys Acta.* Jan 20 1995;1254(2):127-134.
359. Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegthart JF, Agro AF. Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem.* Nov 27 1998;273(48):32332-32339.
360. Dorado P, Penas-Lledo EM, Llerena A. CYP2D6 polymorphism: implications for antipsychotic drug response, schizophrenia and personality traits. *Pharmacogenomics.* Nov 2007;8(11):1597-1608.
361. Miksys S, Rao Y, Hoffmann E, Mash DC, Tyndale RF. Regional and cellular expression of CYP2D6 in human brain: higher levels in alcoholics. *J Neurochem.* Sep 2002;82(6):1376-1387.
362. Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Piomelli D. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nat Neurosci.* Apr 1999;2(4):358-363.
363. Centonze D, Battista N, Rossi S, et al. A critical interaction between dopamine D2 receptors and endocannabinoids mediates the effects of cocaine on striatal gabaergic Transmission. *Neuropsychopharmacology.* Aug 2004;29(8):1488-1497.
364. Kreitzer AC, Malenka RC. Endocannabinoid-mediated rescue of striatal LTD and motor deficits in Parkinson's disease models. *Nature.* Feb 8 2007;445(7128):643-647.
365. De Petrocellis L, Bisogno T, Maccarrone M, Davis JB, Finazzi-Agro A, Di Marzo V. The activity of anandamide at vanilloid VR1 receptors requires facilitated transport across the cell membrane and is limited by intracellular metabolism. *J Biol Chem.* Apr 20 2001;276(16):12856-12863.

366. Engeli S. Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *J Neuroendocrinol.* May 2008;20 Suppl 1:110-115.
367. Sipe JC, Scott TM, Murray S, et al. Biomarkers of endocannabinoid system activation in severe obesity. *PLoS One.* 2010;5(1):e8792.
368. Tarcin O, Bajaj M, Akalin S. Insulin resistance, adipocyte biology, and thiazolidinediones: a review. *Metab Syndr Relat Disord.* Jun 2007;5(2):103-115.
369. Randall MD, Kendall DA, Bennett AJ, O'Sullivan SE. Rimonabant in obese patients with type 2 diabetes. *Lancet.* Feb 17 2007;369(9561):555.
370. De Vry J, Jentzsch KR, Kuhl E, Eckel G. Behavioral effects of cannabinoids show differential sensitivity to cannabinoid receptor blockade and tolerance development. *Behav Pharmacol.* Feb 2004;15(1):1-12.
371. Rais M, Cahn W, Van Haren N, et al. Excessive brain volume loss over time in cannabis-using first-episode schizophrenia patients. *Am J Psychiatry.* Apr 2008;165(4):490-496.
372. Fernandez-Espejo E, Viveros MP, Nunez L, Ellenbroek BA, Rodriguez de Fonseca F. Role of cannabis and endocannabinoids in the genesis of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* Nov 2009;206(4):531-549.
373. Leweke FM, Koethe D. Cannabis and psychiatric disorders: it is not only addiction. *Addict Biol.* Jun 2008;13(2):264-275.
374. Mahadik SP, Evans DR. Is schizophrenia a metabolic brain disorder? Membrane phospholipid dysregulation and its therapeutic implications. *Psychiatr Clin North Am.* Mar 2003;26(1):85-102.
375. Chalon S. Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* Oct-Nov 2006;75(4-5):259-269.
376. Chalon S, Vancassel S, Zimmer L, Guilloteau D, Durand G. Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. *Lipids.* Sep 2001;36(9):937-944.
377. Delion S, Chalon S, Herault J, Guilloteau D, Besnard JC, Durand G. Chronic dietary alpha-linolenic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmission in rats. *J Nutr.* Dec 1994;124(12):2466-2476.
378. Wanibuchi F, Usuda S. Synergistic effects between D-1 and D-2 dopamine antagonists on catalepsy in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 1990;102(3):339-342.
379. Ono N, Abiru T, Sugiyama K, Kamiya H. Influences of cyclooxygenase inhibitors on the cataleptic behavior induced by haloperidol in mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* May 1992;46(1):59-63.
380. Hoppmann RA, Peden JG, Ober SK. Central nervous system side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Aseptic meningitis, psychosis, and cognitive dysfunction. *Arch Intern Med.* Jul 1991;151(7):1309-1313.
381. Franco R, Casado V, Cortes A, et al. G-protein-coupled receptor heteromers: function and ligand pharmacology. *Br J Pharmacol.* Mar 2008;153 Suppl 1:S90-98.

382. Potvin S, Stip E, Tempier A, et al. Pain perception in schizophrenia: no changes in diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) but a lack of pain sensitization. *J Psychiatr Res.* Oct 2008;42(12):1010-1016.
383. Kelly TM, Daley DC, Douaihy AB. Treatment of substance abusing patients with comorbid psychiatric disorders. *Addict Behav.* Jan 2012;37(1):11-24.
384. Wiley JL, Evans RL, Grainger DB, Nicholson KL. Age-dependent differences in sensitivity and sensitization to cannabinoids and 'club drugs' in male adolescent and adult rats. *Addict Biol.* Sep 2008;13(3-4):277-286.
385. Weston-Green K, Huang XF, Han M, Deng C. The effects of antipsychotics on the density of cannabinoid receptors in the dorsal vagal complex of rats: implications for olanzapine-induced weight gain. *Int J Neuropsychopharmacol.* Sep 2008;11(6):827-835.
386. Secher A, Husum H, Holst B, Egerod KL, Møllerup E. Risperidone treatment increases CB1 receptor binding in rat brain. *Neuroendocrinology.* 2010;91(2):155-168.
387. Cheng MC, Liao DL, Hsiung CA, Chen CY, Liao YC, Chen CH. Chronic treatment with aripiprazole induces differential gene expression in the rat frontal cortex. *Int J Neuropsychopharmacol.* Mar 2008;11(2):207-216.
388. Theisen FM, Haberhausen M, Firnges MA, et al. No evidence for binding of clozapine, olanzapine and/or haloperidol to selected receptors involved in body weight regulation. *Pharmacogenomics J.* Aug 2007;7(4):275-281.
389. Zuardi AW, Hallak JE, Dursun SM, et al. Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. *J Psychopharmacol.* Sep 2006;20(5):683-686.
390. Roser P, Vollenweider FX, Kawohl W. Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (CB1) receptor antagonists. *World J Biol Psychiatry.* Mar 2010;11(2 Pt 2):208-219.
391. Kelly DL, Gorelick DA, Conley RR, et al. Effects of the cannabinoid-1 receptor antagonist rimonabant on psychiatric symptoms in overweight people with schizophrenia: a randomized, double-blind, pilot study. *J Clin Psychopharmacol.* Feb 2011;31(1):86-91.
392. Ugur T, Bartels M, Kis B, Scherbaum N. Psychosis following anti-obesity treatment with rimonabant. *Obes Facts.* 2008;1(2):103-105.
393. Tzavara ET, Degroot A, Wade MR, Davis RJ, Nomikos GG. CB1 receptor knockout mice are hyporesponsive to the behavior-stimulating actions of d-amphetamine: role of mGlu5 receptors. *Eur Neuropsychopharmacol.* Mar 2009;19(3):196-204.
394. Tzavara ET, Davis RJ, Perry KW, et al. The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *Br J Pharmacol.* Feb 2003;138(4):544-553.
395. Thomas A, Baillie GL, Phillips AM, Razdan RK, Ross RA, Pertwee RG. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. *Br J Pharmacol.* Mar 2007;150(5):613-623.

396. Russo EB, Burnett A, Hall B, Parker KK. Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT_{1a} receptors. *Neurochem Res.* Aug 2005;30(8):1037-1043.
397. Gomes FV, Resstel LB, Guimaraes FS. The anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis are mediated by 5-HT_{1A} receptors. *Psychopharmacology (Berl)*. Feb 2011;213(2-3):465-473.
398. Zanelati TV, Biojone C, Moreira FA, Guimaraes FS, Joca SR. Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT_{1A} receptors. *Br J Pharmacol.* Jan 2010;159(1):122-128.
399. Guimaraes VM, Zuardi AW, Del Bel EA, Guimaraes FS. Cannabidiol increases Fos expression in the nucleus accumbens but not in the dorsal striatum. *Life Sci.* Jun 18 2004;75(5):633-638.
400. Zuardi AW, Morais SL, Guimaraes FS, Mechoulam R. Antipsychotic effect of cannabidiol. *J Clin Psychiatry.* Oct 1995;56(10):485-486.
401. Zuardi AW, Crippa JA, Hallak JE, Moreira FA, Guimaraes FS. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Braz J Med Biol Res.* Apr 2006;39(4):421-429.
402. Klein C, Karanges E, Spiro A, et al. Cannabidiol potentiates Delta(9)-tetrahydrocannabinol (THC) behavioural effects and alters THC pharmacokinetics during acute and chronic treatment in adolescent rats. *Psychopharmacology (Berl)*. Nov 2011;218(2):443-457.
403. Zuardi AW, Hallak JE, Crippa JA. Interaction between cannabidiol (CBD) and (9)-tetrahydrocannabinol (THC): influence of administration interval and dose ratio between the cannabinoids. *Psychopharmacology (Berl)*. Jan 2012;219(1):247-249.
404. Bhattacharyya S, Crippa JA, Allen P, et al. Induction of psychosis by Delta9-tetrahydrocannabinol reflects modulation of prefrontal and striatal function during attentional salience processing. *Arch Gen Psychiatry.* Jan 2012;69(1):27-36.
405. Fusar-Poli P, Crippa JA, Bhattacharyya S, et al. Distinct effects of {delta}9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing. *Arch Gen Psychiatry.* Jan 2009;66(1):95-105.
406. Moreira FA, Guimaraes FS. Cannabidiol inhibits the hyperlocomotion induced by psychotomimetic drugs in mice. *Eur J Pharmacol.* Apr 11 2005;512(2-3):199-205.
407. Long LE, Malone DT, Taylor DA. Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Neuropsychopharmacology.* Apr 2006;31(4):795-803.
408. Gururajan A, Taylor DA, Malone DT. Effect of cannabidiol in a MK-801-rodent model of aspects of schizophrenia. *Behav Brain Res.* Sep 23 2011;222(2):299-308.
409. Cristino L, de Petrocellis L, Pryce G, Baker D, Guglielmotti V, Di Marzo V. Immunohistochemical localization of cannabinoid type 1 and vanilloid transient

- receptor potential vanilloid type 1 receptors in the mouse brain. *Neuroscience*. 2006;139(4):1405-1415.
410. Marsch R, Foeller E, Rammes G, et al. Reduced anxiety, conditioned fear, and hippocampal long-term potentiation in transient receptor potential vanilloid type 1 receptor-deficient mice. *J Neurosci*. Jan 24 2007;27(4):832-839.
 411. Xing J, Li J. TRPV1 receptor mediates glutamatergic synaptic input to dorsolateral periaqueductal gray (dl-PAG) neurons. *J Neurophysiol*. Jan 2007;97(1):503-511.
 412. Zuardi AW, Crippa JA, Hallak JE, et al. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. *J Psychopharmacol*. Nov 2009;23(8):979-983.
 413. Herken H, Erdal M, Aydin N, et al. The association of olanzapine-induced weight gain with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism in patients with schizophrenia. *DNA Cell Biol*. Oct 2009;28(10):515-519.
 414. Hamdani N, Tabeze JP, Ramoz N, et al. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*. Jan 2008;18(1):34-40.
 415. Digby GJ, Shirey JK, Conn PJ. Allosteric activators of muscarinic receptors as novel approaches for treatment of CNS disorders. *Mol Biosyst*. Aug 2010;6(8):1345-1354.
 416. Wegener N, Koch M. Behavioural disturbances and altered Fos protein expression in adult rats after chronic pubertal cannabinoid treatment. *Brain Res*. Feb 9 2009;1253:81-91.
 417. Hansen HH, Timmermann DB, Peters D, Walters C, Damaj MI, Mikkelsen JD. Alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor agonists selectively activate limbic regions of the rat forebrain: an effect similar to antipsychotics. *J Neurosci Res*. Jun 2007;85(8):1810-1818.
 418. Thomsen MS, Hansen HH, Timmerman DB, Mikkelsen JD. Cognitive improvement by activation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors: from animal models to human pathophysiology. *Curr Pharm Des*. Jan 2010;16(3):323-343.
 419. Thomsen MS, Hay-Schmidt A, Hansen HH, Mikkelsen JD. Distinct neural pathways mediate alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-dependent activation of the forebrain. *Cereb Cortex*. Sep 2010;20(9):2092-2102.
 420. Jones CK, Byun N, Bubser M. Muscarinic and Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists and Allosteric Modulators for the Treatment of Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. Jan 2012;37(1):16-42.
 421. Sumiyoshi T, Higuchi Y, Matsui M, et al. Membrane fatty acid levels as a predictor of treatment response in chronic schizophrenia. *Psychiatry Res*. Mar 30 2011;186(1):23-27.
 422. Kaddurah-Daouk R, McEvoy J, Baillie RA, et al. Metabolomic mapping of atypical antipsychotic effects in schizophrenia. *Mol Psychiatry*. Oct 2007;12(10):934-945.

423. Muller N, Riedel M, Scheppach C, et al. Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. Jun 2002;159(6):1029-1034.
424. Myers CS, Contreras MA, Chang MC, Rapoport SI, Appel NM. Haloperidol downregulates phospholipase A(2) signaling in rat basal ganglia circuits. *Brain Res*. Mar 30 2001;896(1-2):96-101.
425. Park EY, Cho IJ, Kim SG. Transactivation of the PPAR-responsive enhancer module in chemopreventive glutathione S-transferase gene by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and retinoid X receptor heterodimer. *Cancer Res*. May 15 2004;64(10):3701-3713.
426. Garcia-Bueno B, Caso JR, Perez-Nievas BG, Lorenzo P, Leza JC. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists on brain glucose and glutamate transporters after stress in rats. *Neuropsychopharmacology*. Jun 2007;32(6):1251-1260.
427. Stone JM, Morrison PD, Pilowsky LS. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol*. Jun 2007;21(4):440-452.
428. McIntyre RS, Soczynska JK, Woldeyohannes HO, et al. Thiazolidinediones: novel treatments for cognitive deficits in mood disorders? *Expert Opin Pharmacother*. Aug 2007;8(11):1615-1628.
429. Brodbeck J, Balestra ME, Saunders AM, Roses AD, Mahley RW, Huang Y. Rosiglitazone increases dendritic spine density and rescues spine loss caused by apolipoprotein E4 in primary cortical neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jan 29 2008;105(4):1343-1346.
430. Rollins B, Martin MV, Sequeira PA, et al. Mitochondrial variants in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *PLoS One*. 2009;4(3):e4913.
431. Sun Y, Bennett A. Cannabinoids: a new group of agonists of PPARs. *PPAR Res*. 2007;2007:23513.
432. O'Brien C, Childress AR, Ehrman R, Robbins S, McLellan AT. Conditioning mechanisms in drug dependence. *Clin Neuropharmacol*. 1992;15 Suppl 1 Pt A: 66A-67A.
433. See RE, Grimm JW, Kruzich PJ, Rustay N. The importance of a compound stimulus in conditioned drug-seeking behavior following one week of extinction from self-administered cocaine in rats. *Drug Alcohol Depend*. Nov 1 1999;57(1): 41-49.
434. Shaham Y, Erb S, Stewart J. Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain Res Brain Res Rev*. Aug 2000;33(1):13-33.
435. Kalivas PW, McFarland K. Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. Jul 2003;168(1-2):44-56.
436. Beardsley PM, Thomas BF, McMahon LR. Cannabinoid CB1 receptor antagonists as potential pharmacotherapies for drug abuse disorders. *Int Rev Psychiatry*. Apr 2009;21(2):134-142.

437. Tanda G, Goldberg SR. Cannabinoids: reward, dependence, and underlying neurochemical mechanisms--a review of recent preclinical data. *Psychopharmacology (Berl)*. Sep 2003;169(2):115-134.
438. Lupica CR, Riegel AC, Hoffman AF. Marijuana and cannabinoid regulation of brain reward circuits. *Br J Pharmacol*. Sep 2004;143(2):227-234.
439. Cohen C, Kudas E, Griebel G. CB1 receptor antagonists for the treatment of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav*. Jun 2005;81(2):387-395.
440. Fattore L, Martellotta MC, Cossu G, Mascia MS, Fratta W. CB1 cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decreases intravenous cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res*. Oct 1999;104(1-2):141-146.
441. Soria G, Mendizabal V, Tourino C, et al. Lack of CB1 cannabinoid receptor impairs cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*. Sep 2005;30(9):1670-1680.
442. Xi ZX, Gardner EL. Hypothesis-driven medication discovery for the treatment of psychostimulant addiction. *Curr Drug Abuse Rev*. Nov 2008;1(3):303-327.
443. Wiskerke J, Pattij T, Schoffelmeer AN, De Vries TJ. The role of CB1 receptors in psychostimulant addiction. *Addict Biol*. Jun 2008;13(2):225-238.
444. Filip M, Golda A, Zaniewska M, et al. Involvement of cannabinoid CB1 receptors in drug addiction: effects of rimonabant on behavioral responses induced by cocaine. *Pharmacol Rep*. Nov-Dec 2006;58(6):806-819.
445. Xi ZX, Gilbert JG, Peng XQ, Pak AC, Li X, Gardner EL. Cannabinoid CB1 receptor antagonist AM251 inhibits cocaine-primed relapse in rats: role of glutamate in the nucleus accumbens. *J Neurosci*. Aug 16 2006;26(33):8531-8536.
446. Srisurapanont M, Jarusuraisin N. Opioid antagonists for alcohol dependence. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005(1):CD001867.
447. Rosner S, Hackl-Herrwerth A, Leucht S, Vecchi S, Srisurapanont M, Soyka M. Opioid antagonists for alcohol dependence. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010(12):CD001867.
448. Florez G, Saiz PA, Garcia-Portilla P, Alvarez S, Nogueiras L, Bobes J. Topiramate for the treatment of alcohol dependence: comparison with naltrexone. *Eur Addict Res*. 2011;17(1):29-36.
449. Edwards S, Kenna GA, Swift RM, Leggio L. Current and promising pharmacotherapies, and novel research target areas in the treatment of alcohol dependence: a review. *Curr Pharm Des*. 2011;17(14):1323-1332.
450. Rosner S, Hackl-Herrwerth A, Leucht S, Leher P, Vecchi S, Soyka M. Acamprosate for alcohol dependence. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010(9):CD004332.
451. Madayag A, Lobner D, Kau KS, et al. Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *J Neurosci*. Dec 19 2007;27(51):13968-13976.

452. Peters J, Kalivas PW. The group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY379268, inhibits both cocaine- and food-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. Jun 2006;186(2):143-149.
453. Baptista MA, Martin-Fardon R, Weiss F. Preferential effects of the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 on conditioned reinstatement versus primary reinforcement: comparison between cocaine and a potent conventional reinforcer. *J Neurosci*. May 19 2004;24(20):4723-4727.
454. Bossert JM, Gray SM, Lu L, Shaham Y. Activation of group II metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens shell attenuates context-induced relapse to heroin seeking. *Neuropsychopharmacology*. Oct 2006;31(10):2197-2209.
455. Patil ST, Zhang L, Martenyi F, et al. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med*. Sep 2007;13(9):1102-1107.
456. Phillips T, Rees S, Augood S, et al. Localization of metabotropic glutamate receptor type 2 in the human brain. *Neuroscience*. 2000;95(4):1139-1156.
457. Carr DB, Sesack SR. Dopamine terminals synapse on callosal projection neurons in the rat prefrontal cortex. *J Comp Neurol*. Sep 18 2000;425(2):275-283.
458. Seeman P, Guan HC. Phencyclidine and glutamate agonist LY379268 stimulate dopamine D2High receptors: D2 basis for schizophrenia. *Synapse*. Nov 2008;62(11):819-828.
459. Zhang PW, Ishiguro H, Ohtsuki T, et al. Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Mol Psychiatry*. Oct 2004;9(10):916-931.
460. Harris GC, Wimmer M, Aston-Jones G. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking. *Nature*. Sep 22 2005;437(7058):556-559.
461. Lopez-Moreno JA, Gonzalez-Cuevas G, Moreno G, Navarro M. The pharmacology of the endocannabinoid system: functional and structural interactions with other neurotransmitter systems and their repercussions in behavioral addiction. *Addict Biol*. Jun 2008;13(2):160-187.

